UNIVERSITÉ DE NANCY

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

N° 58 Année 1919-1920

LE PHÉNOMÈNE DE L'AGGLUTINATION

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le 23 Mars 1920, à 16 h. 30

A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Pharmacie)

par

J. HEITZ

Né à Nancy, le 2 Août 1888

SOUTENUE DEVANT LE JURY D'EXAMEN

Examinateurs de la Thèse..... MM. HOLLANDE, *Président.*
LASSEUR, VERNIER *Juges.*

IMPRIMERIE HÉRÉ, E. CLAUDE, 3, PLACE CARNOT, NANCY

— 1920 —

UNIVERSITÉ DE NANCY

ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

N° 58 Année 1919-1920

LE PHÉNOMÈNE DE L'AGGLUTINATION

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le *à* *heures*

A L'ÉCOLE SUPÉRIEURE DE PHARMACIE

POUR OBTENIR

LE TITRE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Pharmacie)

par

J. HEITZ

Né à Nancy, le 2 Août 1888

SOUTENUE DEVANT LE JURY D'EXAMEN

Examinateurs de la Thèse..... MM. HOLLANDE, *Président.*
LASSEUR, VERNIER, *Juges.*

IMPRIMERIE HÉRÉ, E. CLAUDE, 3, PLACE CARNOT, NANCY

— 1920 —

Directeur : M. BRUNTZ ⚕, I ✪, ✿.
Assesseur : M. FAVREL ✲, I ✪.

Professeurs

MM.	FAVREL ✲, I ✪	Chimie organique.
	GRÉLOT ✲, I ✪	Pharmacie galénique.
	BRUNTZ ⚕, I ✪, ✿	Matière médicale.
	DOURIS ✲, ✪, décon étrangre.	Analyse chimique et Toxicologie.
	HOLLANDE ✪	Histoire naturelle (Zoologie et Parasitologie).
	PASTUREAU ✲	Pharmacie chimique.
	SEYOT ✪, ⚕	Histoire naturelle.

Agrégé libre

M.	GIRARDET I ✪ (en congé) ...	Chimie et Toxicologie.

Chargés de cours

MM.	FAVREL ✲, I ✪	Chimie minérale et Minéralogie.
	DOURIS ✲, ✪	Chimie biologique.
	GRÉLOT ✲, I ✪	Hydrologie et Géologie.
	LASSEUR ✪	Bacteriologie.
	VERNIER ✪	Hygiène.
	N...	Législation.

Chefs de travaux

MM.	SEYOT ✪, ⚕, chargé des trav.	Micrographie.
	CORDEBARD ⚕	Chimie, Analyse chimique et Toxicologie.
	GILLOT ✪	Pharmacie.
	VERNIER ✪	Microbiologie et Parasitologie.
	PILLOT I ✪, chargé de trav. .	Physique.

Secrétariat

MM.	BERTRAND I ✪	Secrétaire.
	TRIBOLET	Commis.

M. F. LAMBERT DES CILLEULS ✲, ✿, I ✪, Secrétaire honoraire.

L'École a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend ni les approuver ni les improuver.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA FEMME ET A MA MÈRE

AUX MIENS ET AMIS

INTRODUCTION

Le phénomène de l'agglutination a suscité d'innombrables travaux, mais la plupart d'entre eux ne se rapportent qu'à un point particulier de la question ou rendent seulement compte de recherches expérimentales. Jusqu'à ce jour, aucun ouvrage d'ensemble n'a été publié en français sur l'agglutination. Suivant les conseils de nos maîtres : M. le Docteur Bruntz, directeur de l'Ecole supérieure de Pharmacie, et M. Ph. Lasseur, chargé du cours de Bactériologie, nous avons cru faire œuvre utile en exposant l'état actuel de la question d'après les nombreux travaux parus tant en France qu'à l'étranger. Un certain nombre de points touchant l'agglutination, restant encore à élucider, il n'est pas possible de donner dès maintenant une interprétation définitive du phénomène, aussi notre effort a-t-il tendu seulement à discerner les données solidement acquises, des hypothèses non encore vérifiées ou simplement hasardeuses.

⁂

Qu'il nous soit permis d'adresser ici l'expression de notre reconnaissance la plus vive à M. le Docteur Bruntz, Directeur de l'Ecole Supérieure de Pharmacie,

notre Maître de ces dernières années, et à M. Ph. Lasseur, qui a bien voulu être notre guide au milieu des phénomènes si complexes dont nous avons abordé l'étude et qui nous a aidé si complaisamment de ses conseils particulièrement autorisés. Nous remercions M. Lasseur non seulement des documents bibliographiques qu'il a mis à notre disposition, mais encore des résultats expérimentaux inédits qu'il a bien voulu nous communiquer.

Merci également à notre excellent ami M. le Docteur Vernier dont nous avons mis plus d'une fois la complaisance à l'épreuve.

⁂

Pour faciliter la compréhension de ce travail, nous allons indiquer très sommairement le plan que nous avons adopté.

Le présent sujet comprend 2 parties et un appendice. La première partie se compose des 7 premiers chapitres ; elle traite du phénomène de l'agglutination en lui-même et indépendamment de sa signification physiologque. Le chapitre I est consacré à l'étude des principaux caractères de l'agglutination ; les chapitres II et III concernent l'antigène ; les chapitres IV, V et VI se rapportent à l'anticorps, le chapitre VII à l'action de l'anticorps sur l'antigène.

La deuxième partie, qui ne comprend que le chapitre VIII, a trait à l'agglutination dans ses rapports avec l'immunité.

Enfin, nous avons annexé à notre travail un appendice traitant des pseudo-agglutinations, c'est-à-dire des précipitations d'émulsions bactériennes par des agents autres que les agglutinines spécifiques.

HISTORIQUE

C'est en 1889 que le phénomène de l'agglutination a été aperçu pour la première fois par CHARRIN et ROGER, en cultivant du bacille pyocyanique en présence de son antisérum. Deux ans plus tard, METSCHNIKOFF observait le même phénomène pour le microbe de la pneumonie. Ce savant, « prêt à donner une portée générale à ces phénomènes d'agglomération, ne le fit pas, car il ne les constata plus ultérieurement, en cultivant le microbe de la pneumo-entérite des porcs dans le sérum des animaux immunisés contre ce microbe ».

ISAEFF (1893) remarqua également que les pneumocoques, mis en présence de sérum d'un animal immunisé contre ce germe, croissaient en amas de chaînettes comme les streptocoques. L'année suivante, ISAEFF et IVANHOF observent que les vibrions d'IVANHOF se développaient en amas floconneux dans les bouillons additionnés d'antisérums.

Tels sont les seuls travaux parus sur l'agglutination de 1889 à 1894. Cette même année, PFEIFFER découvrait le phénomène auquel il a attaché son nom. En 1895, BORDET, réalisant une expérience de PFEIFFER, remarqua que les vibrions, avant d'être réduits en granules, se réunissaient en amas. C'était la première fois que l'on décrivait l'ag-

glutination obtenue par addition d'un sérum à une culture et non par ensemencement. BORDET eut aussi le mérite de démontrer, dans le même travail, que le phénomène de PFEIFFER, dont la spécificité avait été discutée jusque-là, était bien réellement spécifique lorsqu'on utilisait des dilutions convenables de sérum. L'étude de l'action des sérums dilués sur les microbes allait également démontrer la spécificité de l'agglutination, et de ce fait, accroître l'intérêt du phénomène.

GRUBER et DURHAM (31 mai 1896) publièrent un article dans la « Münch. Méd. Wochenschrift » dans lequel, ayant reocnnu, comme BORDET la spécifité de l'agglutination par les immunsérums dilués, ils établissaient une méthode d'identification des bactéries, basée sur l'agglutination. Cette méthode, perfectionnée depuis, est aujourd'hui d'un usage courant dans les laboratoires, où elle rend d'importants services.

GRUBER émit, la même année, une hypothèse sur le mécanisme même de l'agglutination ; il attribuait la formation d'amas bactériens à la viscosité des microbes ayant été en contact avec leur immunsérum. Aussitôt émise, cette théorie fut réfutée par BORDET (1896) qui voyait dans l'agglutination un phénomène de « physique moléculaire ».

Trois ans plus tard, dans un article des « Annales » de l'INSTITUT PASTEUR, BORDET confirmait sa première hypothèse et apportait de nouveaux arguments en sa faveur. Cette théorie de BORDET, qui devait recevoir, dans la suite, une éclatante confirmation de l'étude des colloïdes, est à peu près généralement admise aujourd'hui.

En juillet 1896, WIDAL et SICARD démontrèrent que l'agglutination n'était pas, comme le croyait GRUBER, une réaction d'immunité, mais une réaction d'infection et

préconisèrent l'emploi de l'agglutination pour le diagnostic des maladies infectieuses. Cette méthode de *sérodiagnostic* est, depuis longtemps déjà, universellement employée et rend en clinique, d'immenses services.

Ainsi, dès 1899, après les travaux de BORDET sur le mécanisme de l'agglutination, ceux de GRUBER et DURHAM sur l'identification des bactéries par les immunsérums et ceux que WIDAL et SICARD sur le sérodiagnostic, tout l'intérêt théorique et pratique de l'agglutination était mis en lumière. Depuis, un grand nombre de travaux ont été entrepris sûr le phénomène d'agglutination, tant en FRANCE qu'en Allemagne et ont permis d'étendre nos connaissances sur ce sujet, mais beaucoup de points restent cependant encore à élucider.

Depuis, les travaux d'EISENBERG et VOLK (1902) sur la nature de l'union agglutinine-substance agglutinable, un grand nombre de bactériologistes ont orienté leurs recherches vers l'étude comparative de l'agglutination bactérienne et de la floculation des colloïdes. V. HENRI et son école, en France, NEISSER et FRIEDMANN, LANDSNEITER et ses collaborateurs en Allemagne, ont notamment mis en lumière l'étroite parenté des deux phénomènes. A l'heure actuelle, l'étude des agglutinines et des anticorps en général, considérés comme substances colloïdales, continue à être un sujet à l'ordre du jour.

Nous ne pouvons pas, dans ce court aperçu historique, citer tous les auteurs qui ont publié, sur l'agglutination, des travaux d'un réel intérêt, nous aurons l'occasion d'en parler dans le cours de cet ouvrage.

CHAPITRE I

LE PHÉNOMÈNE DE L'AGGLUTINATION

SES PRINCIPAUX CARACTÈRES

---

§ I. — GÉNÉRALITÉS. — DÉFINITION DU PHÉNOMÈNE

Le sang des sujets vaccinés

L'étude du sérum des individus vaccinés, soit par infection spontanée, soit par injection de microorganismes, a montré qu'il a acquis des propriétés particulières vis-à-vis du microorganisme infectant. Un sérum d'un sujet vacciné contre une infection quelconque est un **immunsérum** : c'est **l'immunsérum homologue** du microorganisme, qui a produit l'immunisation. Parmi les propriétés acquises par un immusérum, on remarque le pouvoir

agglutinant ou pouvoir de *provoquer le phénomène de l'agglutination du germe infectant.* C'est ce phénomène que nous nous sommes proposés d'étudier dans cet ouvrage.

Le sang des individus infectés

La plupart des propriétés acquises par un immunsérum peuvent se rencontrer également, bien que généralement à un degré moindre, dans un sérum d'individu non encore immunisé, mais simplement en cours d'infection. En ce qui concerne le pouvoir agglutinant, WIDAL et SICARD ont montré, en 1897, qu'on le rencontrait presque aussi fréquemment dans le sang des typhiques pendant la période d'infection que pendant la période d'immunité.

Dans le cours du présent travail, nous aurons à parler du pouvoir agglutinant dans l'une et l'autre période.

Par *antisérum*, nous désignerons indifféremment le sérum d'individu immunisé (immunsérum) et le sérum d'individu en cours de maladie, c'est **l'antisérum homologue** ou plus simplement l'antisérum du microorganisme qui a déterminé ou l'immunité ou la maladie.

Définition du phénomène

Le phénomène de l'agglutination consiste :

1° Soit dans le développement en amas des bactéries cultivées dans un milieu liquide additionné d'antisérum homologue ;

2° Soit dans une agglomération des bactéries réparties uniformément dans un liquide, lorsqu'on ajoute à ce milieu l'antisérum correspondant.

La formation d'amas est généralement précédée de l'immobilisation des bactéries, mais l'expérience a prouvé que cette règle souffre des exceptions (LASSEUR, inédit).

§ 2. — CARACTÈRES MICROSCOPIQUES DU PHÉNOMÈNE

a) Expérience de CHARRIN et ROGER (1889)

(Agglutination par développement en milieu liquide)

Lorsqu'on ensemence un microbe quelconque, le *bacille pyocyanique*, par exemple, dans un milieu liquide nutritif contenant du sérum normal, on constate qu'après un séjour de 24 heures à 37°, les microbes ont envahi tout le liquide en donnant un trouble homogène. Mais, si on ensemence avec ce même microbe, un liquide nutritif contenant de l'antisérum pyocyanique, on remarque qu'après un séjour à l'étuve de durée égale, les bactéries, au lieu de se répandre uniformément dans le liquide, se sont développés dans le fond du tube, en formant des amas floconneux visibles à l'œil nu. Le liquide surnageant est resté clair. Par agitation, on voit à la lumière oblique ou sur un fond sombre, ces amas se disperser dans le liquide, mais sans redonner d'émulsion homogène, puis se déposer assez rapidement lorsqu'on cesse l'agitation ; le liquide surnageant redevient limpide. C'est

sous cet aspect que l'agglutination a été aperçue pour la première fois, en 1889, par CHARRIN et ROGER. WIDAL et SICARD (1897) ont donné à ce phénomène le nom « d'agglutination des microbes à l'état naissant ».

b) Expérience de BORDET, GRUBER, WIDAL, etc. (1895-96)

L'agglutination par ensemensement des bactéries dans un milieu contenant de l'antisérum s'emploie relativement peu. On lui préfère le procédé découvert par BORDET (1895), perfectionné ultérieurement par cet auteur, puis par GRUBER, WIDAL (1896), etc. et maintenant d'un emploi extrêmement répandu dans tous les laboratoires.

Versons quelques gouttes d'un immunsérum typhique dans un tube à essai contenant 1 à 2 centimètres cubes de bouillon typhique de 24 heures ou d'émulsion de bacilles d'EBERT dans du sérum physiologique et présentant un aspect uniformément trouble. Prenons comme témoin un tube à essai contenant la même quantité du liquide considéré, mais sans addition de sérum. Au bout de deux heures dans le premier tube, celui additionné de sérum, le trouble homogène a disparu et a fait place à un liquide clair, tandis qu'un précipité floconneux formé par les bactéries s'est déposé dans le fond du tube. En l'agitant, nous verrons ce précipité granuleux se répandre dans le liquide, mais sans redonner de trouble homogène. Les flocons granuleux continuent à rester visibles surtout en regardant à la lumière oblique ou sur un fond noir. Le liquide s'éclaircit rapidement par le repos et le précipité s'accumule à nouveau au fond du tube. Dans le

deuxième tube qui nous sert de contrôle, rien de semblable, le liquide est resté uniformément trouble et nous ne constatons la présence d'aucun précipité.

§ 3. — CARACTÈRES MICROSCOPIQUES DU PHÉNOMÈNE

Observons maintenant le même phénomène au microscope. Mettons dans un petit tube à essai quelques gouttes de culture typhique en bouillon avec quelques gouttes d'immunsérum typhique. Laissons en contact un quart d'heure ou une demi-heure, puis prélevons une goutte de ce mélange que nous placerons entre lame et lamelle. Examinons la préparation au microscope en nous servant de l'objectif n° 7 des marques françaises, par exemple. Pour contrôle, examinons sur une autre lame, une goutte de bouillon typhique sans addition de sérum. Alors que dans la culture témoin sans sérum, les bacilles se montrent isolés, extrêmement mobiles et fourmillant dans tout le champ du microscope, dans le mélange culture-sérum, au contraire, nous ne les retrouvons plus ni isolés, ni mobiles. Ils forment des amas nombreux confluents ou non, « parsemant tous les points de la préparation à la façon des ilôts d'un archipel » (WIDAL et SICARD). Certains de ces amas sont encore lâches et troués, d'autres sont plus compacts. Il y en a de petits formés de 3 ou 4 bacilles enchevêtrés, et de plus gros formés d'une grande quantité de microbes : les germes qui sont à la périphérie des amas présentent encore l'aspect habituel des microbes, mais ceux du centre sont absolument informes et comme fondus en une masse amorphe. Entre les amas,

on peut voir quelques bacilles isolés parfois encore plus ou moins mobiles.

Observons maintenant le processus même de l'agglutination sous un plus fort grossissement. Ajoutons sous l'objectif, une goutte de sérum fortement agglutinant à une goutte de bouillon ou d'émulsion de bacilles typhiques très mobiles. Les bacilles sont comme « frappés de stupeur », ils perdent presque instantanément leur mobilité, se trouvent comme attirés les uns par les autres et s'assemblent en amas. Si l'on se sert de sérum moins actif ou plus dilué, la réaction est la même, mais s'effectue moins rapidement, les bacilles sont agités d'un tremblement plus faible qui cesse peu à peu. Ceux encore mobiles s'approchent des bâtonnets déjà immobilisés, les touchent, s'en éloignent, puis les touchent à nouveau et finalement restent accolés.

§ 4. — AGGLUTINATION ET AGGLUTININE

On admet généralement que les différentes propriétés acquises par un antisérum ou un immunsérum sont dues à la présence dans ces liquides de substances appelées anticorps, substances produites par l'organisme au cours de l'infection. Ces anticorps exercent leur action en se fixant sur la bactérie homologue.

Le pouvoir agglutinant d'un immunsérum ou d'un antisérum est dû à un anticorps spécial appelé **agglutinine** qui se fixe sur la bactérie homologue. En effet lorsqu'un sérum a agglutiné un bouillon de culture ou une émulsion bactérienne, il a perdu son pouvoir agglutinant, il y a donc eu absorption de l'agglutine par le microbe.

Dans certains cas d'ailleurs, une partie de l'agglutine ainsi absorbée par le microbe peut être restituée à un milieu liquide qui devenant lui-même agglutinant en décèle la présence. (voir paragr. 3 chap. VII). De quelle manière s'opère cette fixation ? Serait-elle due à une combinaison chimique entre l'agglutinine et une substance faisant partie du microbe ou secrétée par lui que nous dénommerons **substance agglutinable** ? ou bien serait-elle due à un phénomène moléculaire d'ordre purement physique ?

Ces deux hypothèses : l'une due à Ehrlich (théorie des chaînes latérales), l'autre due à Bordet (1896-1899) (théorie physique de l'immunité) ont leurs partisans, mais il n'existe aucune preuve vraiment décisive en faveur de l'une ou l'autre hypothèse (voir chap. VII, paragr. 5).

En réalité, les anticorps et notamment l'agglutinine n'ont pas été isolés à l'état pur, la preuve de leur existence est due à une inférence et non à une constatation expérimentale. La fonction agglutinante spécifique paraît être attachée dans tous les cas à des substances albuminoïdes. Mais comme la chimie des albuminoïdes est peu avancée, des doutes ont été émis sur l'existence matérielle des agglutinines.

Certains bactériologistes ont pensé qu'il fallait considérer les aglutinines comme forme spéciale d'énergie plutôt que comme substance. De même que l'énergie calorifique produit la coagulation de particules colloïdales en suspension dans un liquide, de même l'énergie agglutinante ou agglutinine serait cause, chez les bactéries d'un phénomène analogue. Nous verrons (chap VI paragr. 1) qu'il y a lieu de considérer les agglutinines plutôt comme des substances matérielles que comme des modalités de l'énergie.

Les antisérums sont plus ou moins agglutinants, pour leur bactérie homologue, mais la quantité d'agglutinine qu'ils contiennent ne peut être mesurée qu'indirectement puisque nous avons vu que les agglutinines n'ont pas été isolées jusqu'à présent. Pour exprimer le pouvoir agglutinant d'un sérum et par conséquent sa teneur relative en agglutinine, on indique le degré de dilution auquel le sérum étendu est encore actif vis-à-vis d'une émulsion bactérienne considérée comme type. Si une goutte de sérum non dilué agglutine une goutte d'émulsion type, on dit que le sérum agglutine à 1/2, si une goutte de sérum agglutine encore quatre-vingt-dix-neuf gouttes d'émulsion type, on dit qu'il est agglutinant à 1/100, etc.

§ 5. — DIVISION DU PHÉNOMÈNE

On peut distinguer plusieurs temps dans le phénomène de l'agglutination. Nous pouvons d'abord considérer la formation de l'agglutinine dans le corps de l'individu infecté sous l'influence de **l'antigène,** phénomène essentiellement biologique. Nous l'étudierons dans un chapitre spécial ayant trait à la formation de **l'anticorps** (Ch. IV).

Un deuxième temps du phénomène : c'est *l'agglutination proprement dite*, telle que nous l'avons décrite précédemment, c'est-à-dire l'action de l'agglutinine sur le microbe infectant. Mais BORDET a encore distingué deux phases dans cette dernière partie du phénomène. Dans une première phase, il y a **fixation** de l'agglutinine sur les bactéries et dans une deuxième ily a **floconnisation,** c'est-à-dire réunion en amas sous l'influence soit du chlorure de sodium qui se trouve naturellement dans le

sérum, soit d'un autre sel qu'on peut y ajouter. Cette division du phénomène n'est pas seulement idéale, mais on peut observer fréquemment la première phase seulement, la deuxième étant empêchée, soit par l'absence de sel dans le milieu, soit par la présence de « **corps empêchants** ».

Cette notion de la division du processus agglutinatif est très importante, elle sera rappelée fréquemment au cours de cet ouvrage et elle nous servira à comprendre plus d'un phénomène qui resterait obscur sans elle.

§ 6. — SPÉCIFICITÉ DE L'AGGLUTINATION

Un des principaux caractères du phénomène de l'agglutination c'est sa **spécifité.** Il ne se produit généralement que dans le cas où l'on met en contact une émulsion bactérienne ou un bouillon de culture avec son antisérum homologue. Lorsqu'on verse, par exemple, dans une émulsion de *vibrion cholérique*, quelques gouttes d'un immunsérum cholérique, on produit l'agglutination des vibrions, mais si l'on ajoute à l'émulsion un antisérum typhique ou pyocyanique, streptococcique, ou tout autre sérum provenant d'un malade atteint d'une affection qui n'est pas le choléra, habituellement aucun phénomène d'agglutination n'a lieu.

L'agglutinine homologue d'un microorganisme est donc seule capable de s'unir à ce microorganisme pour l'agglutiner. Ou tout au moins agit-elle mieux sur lui que sur tout autre germe hétérologue ? C'est ce qui constitue la spécificité du phénomène qui nous occupe.

Selon la théorie des chaînes latérales d'Erlich, cette affinité spéciale de l'anticorps pour son antigène est due à la composition chimique des corps en présence, qui permet leur union chimique. Pour la théorie physique de Bordet, au contraire, cette affinité est due à la nature physique des corps en présence, grosseur des particules, charges électriques, etc... (voir chap. VII p. 5).

Les premiers observateurs du phénomène : Charrin et Roger, Bordet, Metschnikoff, Gruber, etc... connaissaient déjà la spécificité et ont été frappés de l'intérêt qu'elle pouvait présenter, soit dans les laboratoires, soit dans la clinique. Gruber et Durham ont utilisé cette propriété les premiers pour identifier des échantillons de bacilles d'Eberth en partant d'immunsérums typhiques. Depuis, cette méthode d'identification des microbes, au moyen de sérums connus, est extrêmement employée. Dautre part, Widal et Sicard ont établi au début des recherches sur l'agglutination une méthode de diagnostic des maladies infectieuses connue sous le nom de *sérodiagnostic*. En mettant en présence d'une culture connue un sérum de malade, on détermine, lorsque l'agglutination se produit, la nature de la maladie. Mais Gruber (1896), Gilbert et Fournier (1896), Achard et Bensande (1896) se sont aperçus rapidement que cette spécificité n'était pas rigoureuse et qu'un sérum donné pouvait agglutiner, outre la bactérie homologue, d'autres microbes voisins quoiqu'à un taux relativement beaucoup plus faible, ainsi le bacile d'Eberth peut encore être agglutiné par son antisérum dilué à 1/100.000 par exemple, tandis que le bacille coli ne sera plus agglutiné par ce même antisérum à la dilution de 1/50. Cette agglutination secondaire d'une espèce hétérologue est désignée sous le nom de **coagglutination.** Cette coagglutination

des espèces voisines restreint, comme nous le verrons, l'emploi du phénomène de l'agglutination comme moyen d'identification des bactéries et des maladies infectieuses. Elle oblige à un certain nombre de précautions pour éviter les erreurs. (Chap. V paragr. 7).

C'est dans la première phase de l'agglutination seulement, c'est-à-dire dans la fixation de l'agglutinine que réside la spécificité du phénomène, spécificité relative d'ailleurs, ainsi que nous venons de le voir.

La deuxième phase du phénomène, c'est-à-dire la floconnisation des bactéries chargées d'agglutinine homologue par le chlorure de sodium contenu dans le sérum n'est nullement spécifique. Elle a lieu pour toutes les espèces microbiennes, chargées de leur agglutinine homologue. Cette floconnisation, nous l'avons mentionné, peut être empêchée, soit par l'absence de sel, soit par la présence de certains corps dans le milieu. Il faut donc se souvenir que la deuxième phase peut éventuellement ne pas se produire, quoique la première ait lieu, afin d'éviter les erreurs, soit dans le diagnostic des maladies, soit dans l'indentification des microbes. Nous déterminerons dans le chapitre traitant de l'agglutinabilité des bactéries, quelles sont les précautions à prendre pour éviter ces erreurs (Chap. II paragr. 13).

D'autre part, les bactéries non additionnées d'agglutinine peuvent être floconnisées, comme nous le verrons plus loin (voir Appendice, agglutination chimique) par un grand nombre d'agents chimiques. Ce n'est donc pas dans la deuxième phase du phénomène que réside la spécificité de l'agglutination, bien qu'historiquement elle ait révélé l'existence du phénomène.

§ 7. — AGGLUTINATION IN VIVO

Dans la description que nous avons faite du phénomène de l'agglutination, nous n'avons parlé que de l'action d'un sérum extrait d'un organisme humain ou animal. L'agglutination n'a-t-elle pas lieu aussi in vivo ? Il paraît résulter, d'un travail de TAURELLI SALIMBÉNI, du Laboratoire de METCHNIKOFF et ROUX (1897), qu'elle n'a pas lieu dans l'organisme. SALIMBÉNI opérait sur un cheval fortement immunisé contre le choléra et dont le sérum était hautement agglutinant in vitro. L'auteur injectait une culture de vibrion cholérique sous la peau du cheval, cinq minutes après, il retirait quelques gouttes de l'exsudat sous-cutané. En examinant du sérum en gouttes pendantes, sitôt extrait de l'organisme, SALIMBÉNI constatait la présence d'un grand nombre de vibrions, la plupart déjà immobilisés, mais libres et nullement réunis en amas. La formation d'amas avait lieu assez rapidement sous l'œil de l'observateur. On ne saurait objecter que les cinq minutes pendant lesquelles les vibrions ont été en contact sous-cutané avec le sérum représentent un temps insuffisant pour la production du phénomène. En effet, le sérum retiré après 10, 20, 50 minutes et tant qu'on trouvait des vibrions, ne montrait au sortir de l'organisme aucun amas bactérien alors que l'agglutination dans la première goutte suspendue était accomplie depuis longtemps.

SALIMBÉNI, de la même façon, n'a trouvé aucune agglutination in vivo avec l'exsudat péritonéal de cobayes ayant été inoculés avec le microbe du choléra. De plus, en sacrifiant l'animal injecté, il n'a constaté aucune agglutination de vibrions déposés sur les anses intestinales et dans les replis du péritoine. Suivant cet auteur, la présence de l'air favoriserait l'agglutination, mais elle n'est

pas indispensable cependant, car SALIMBÉNI lui-même et d'autres auteurs, GEORGHIEWSKY (1899), DURHAM (1898), NICOLLE (1901), etc., ont également observé l'agglutination dans un milieu privé d'air.

Rien ne permet donc d'affirmer que l'agglutination ait lieu normalement in vivo bien que TRUMMP (1898) prétende l'avoir observé dans une certaine mesure pour les bacilles typhiques. On peut se demander pourquoi l'agglutinine est inactive à l'intérieur de l'organisme et manifeste son action au dehors. Se formerait-elle du fait de la coagulation du sang ? Non, car le plasma sanguin *artificiel* est agglutinant comme il ressort des expériences de WIDAL et SICARD (1897). On n'en saurait conclure cependant que le *plasma circulant* soit agglutinant, car, les plasmas *artificiels* obtenus par les méthodes habituelles au citrate de soude, à l'extrait de sangsue, en tubes paraffinés, ne sont pas identiques au plasma circulant, qui seul ne contient pas de fibrinferment [LOWITT et SCHWARTZ (1903)]. Il nous est donc loisible de penser que l'agglutinine se forme au moment de l'extravasation au dépens d'une proagglutinine du sang, ou bien que l'absence d'agglutination in vivo est due à la présence dans le sang circulant de *corps empêchants* qui seraient détruits au moment de l'extravasation (1).

---

(1) L'extravasation du sang, malgré toutes les précautions prises, entraînant la destruction d'un certain nombre de leucocytes, on peut supposer que ceux-ci mettent en liberté, non pas l'agglutinine, ce qui est peu probable (voir chap. IV, § 9), mais un ferment capable de transformer la proagglutinine en agglutinine vraie ou de détruire « les corps empêchants ». Mais ceci n'est qu'une simple hypothèse, nullement appuyée par l'expérience.

§ 8. — L'AGGLUTINATION EST-ELLE UN PHÉNOMÈNE BIOLOGIQUE ?

Si la prodution de l'agglutinine par l'organisme infecté est un phénomène d'ordre biologique, il n'en est pas de même du phénomène de l'agglutination proprement dite. Les microbes y jouent un rôle passif, ils ne produisent aucune réaction vitale, au contact de l'agglutinine et ils se réunissent en amas à la façon de particules inertes ainsi que l'a démontré BORDET.

Les premiers observateurs du phénomène, CHARRIN et ROGER, METCHNIKOFF, etc., ayant réalisé le phénomène de l'agglutination par ensemencement, ont pu croire qu'il s'agissait d'un phénomène de croissance, d'une forme végétative adoptée par le microbe en vue de sa défense. Mais l'expérience de BORDET où l'addition d'une goutte d'antisérum réalise presque instantanément l'agglutination d'un émulsion bactérienne, ne permet pas de retenir cette manière de voir.

Si ce n'est certainement pas là un phénomène de croissance, peut-être serait-ce un procédé spécial de défense des microbes contre les agglutinines. Les auteurs qui ont observé pour la première fois l'agglutination microscopique ont pu le croire. Les microbes, animés normalement de mouvements divers, se précipitant sous l'influence de l'agglutinine les uns vers les autres, il n'était pas invraisemblable d'admettre qu'ils obéissaient à des influences chimiotactiques dans un but de défense. Mais cette deuxième hypothèse est, elle aussi, à rejeter. Comme l'ont montré pour la première fois BORDET pour le vibrion cholérique, WIDAL et SICARD pour le bacille typhique, le phé-

nomène a lieu également pour des bactéries mortes. Lorsqu'on tue, en effet, les microbes au moyen de différents agents physiques ou chimiques, en les soumettant, par exemple, à une température de 60°, ils peuvent encore subir le phénomène de l'agglutination. Ce dernier n'est donc pas un phénomène vital.

§ 9. — L'AGGLUTINATION INFLUE-T-ELLE SUR LA VIE DU MICROBE ? AGGLUTINATION ET BACTÉRIOLYSE

Il est de fait que l'agglutinine exerce son action sur les bactéries vivantes et mortes. N'aurait-elle pas une action nocive sur les bactéries vivantes, ce qui serait encore un phénomène d'ordre biologique ?

Nous avons vu que dans les amas de bactéries agglutinées, on constatait la présence de microbes altérés. Aussi a-t-on confondu, au début des études sur l'agglutination, celle-ci avec le phénomène de la bactériolyse. Lorsque Bordet a réalisé en 1896 pour la première fois le phénomène de Pfeiffer in vitro sur les vibrions cholériques, il a constaté après l'agglutination une transformation morphologique de vibrions en granules. Dans les amas peu épais où la forme des microbes était encore visible, il constatait, bien que l'aspect extérieur ne fut pas changé, une transformation du protoplasma en granules. Le vibrion perdait ensuite sa forme et se réduisait en petits grains amorphes qui se dissolvaient. Cette constatation fit croire aux premiers observateurs que l'agglutination consistait en une décomposition des bactéries, sous l'influence de l'agglutinine. Des études plus approfondies dues à

Bordet, Gengou (1896), ont montré qu'il fallait séparer nettement les deux phénomènes de l'agglutination et de la batériolyse, qu'ils étaient dus à l'action de corps différents : les agglutinines, d'une part, et les anticorps bactériolytiques (sensibilisatrice + alexine), d'autre part. Lorsqu'on chauffe un sérum à 56°, ce qui a pour conséquence de détruire l'alexine, l'agglutinine subsiste, le sérum peut agglutiner les vibrions, mais la bactériolyse n'a pas lieu dans les amas.

Si donc on a soin de porter son sérum à la température de 56°, on peut déterminer le rôle de l'agglutinine *seule*. Soumis à l'action de l'agglutinine *seule*, les microbes conservent leur vitalité et leur virulence.

Par des injections à des animaux de microbes seulement agglutinés, Bordet et Wassermann ont pu infecter des animaux comme avec des microbes non agglutinés.

Les microbes chargés d'agglutinine (et non d'alexine) sont capables de se reproduire et de se développer sur les milieux habituels comme les microbes normaux.

Si l'on ensemence, par exemple, du bacille du pus bleu dans un tube contenant un sérum pyocyanique fortement dilué et chauffé à 56°, on constate, comme l'ont fait Charrin et Roger (1889), que la partie supérieure du liquide reste claire et que les microbes se développent dans le fond du tube. Là, après multiplication suffisante des microbes, après que les nouvelles bactéries formées ont absorbé toute l'agglutinine du milieu, on constate qu'elles envahissent le liquide devenu indifférent et se disséminent en provoquant un trouble homogène dans tout le liquide. Ainsi les bactéries n'ont pas été tuées par l'état d'accolement, elles se sont multipliées dans cet état, et après la disparition de l'agglutinine du milieu, ont repris leur développement normal.

§ 10. — L'AGGLUTINATION N'ALTÈRE NI LES FOUETS, NI LA MEMBRANE DES BACTÉRIES

Il est acquis que l'agglutinine seule ne dissout pas le microbe, et n'altère ni ses fonctions vitales ni sa virulence. N'a-t-elle pas, au moins, une action sur la membrane et sur les fouets des microbes. On serait tenté de le croire lorsqu'on constate l'immobilité dont sont frappés les microbes placés dans leur antisérum agglutinant. KUHNEMANN (1910) a vu que les fouets de certaines bactéries étaient altérés par un sérum agglutinant. Il faut attribuer très vraisemblablement cette altération à l'action de l'alexine. Par les procédés habituels de coloration des cils, d'autres savants, comme BORDET, PFEIFFER, HINTERBERGER, etc... (1904), n'ont pu constater aucune modification des fouets chez de nombreuses espèces dans l'action des sérums agglutinants dépourvus d'alexine. L'alexine seule n'altère donc pas les fouets des bactéries (1).

Pour GRUBER et DURHAM (1896), la membrane des microbes se gonflait et devenait visqueuse sous l'influence de l'agglutinine. C'est cette viscosité qui, selon ces auteurs,

---

(1) LASSEUR (inédit), en réalisant la formation de petits amas bactériens et même d'amas moyens (15 à 20 éléments) par l'action d'un sérum *antibatticus*, très dilué sur les bactéries correspondantes, constate que les amas agglutinés se déplacent avec une mobilité sensiblement égale à celle des microbes isolés. Cet auteur observe le même fait pour *B. pyocyaneus* et *B. chlororaphis*. La mobilité étant considérée, à juste titre, comme résultant de l'activité des fouets, il est manifeste que l'agglutination n'a pas altéré ces organes.

était cause de l'agglutination. Sans doute, un certain gonflement peut parfois se constater dans la membrane de certains microorganismes placés dans leur antisérum, mais ce n'est pas un phénomène général. « Pour un grand nombre de bactéries ainsi que pour le muguet du singe et de l'homme, on obtient l'agglutination sans modification de la membrane » (LASSEUR, inédit). De plus, le gonflement de la membrane, lorsqu'il existe, ne saurait être attribué à l'agglutine, mais à l'alexine. NEUFELD (1902) a constaté que les peumocoques sous l'influence de leur antisérum se réunissaient en amas gélatineux, mais on constate également un semblable gonflement des capsules de pneumocoques placés dans un sérum non agglutinant de lapin jeune. TRUMMP (1898) pour le vibrion cholérique et ROGER (1889) pour *l'oïdium albicans*, ont eux aussi constaté un gonflement, mais il est à attribuer également aux anticorps bactériolytiques, les antisérums n'ayant pas été chauffés préalablement à 56° pour détruire l'alexine.

Pour la généralité des microorganismes, on n'a pu mettre en évidence aucun gonflement de la membrane, aucun changement dans le nombre et la forme des cils par l'action de l'agglutinine seule (PFEIFFER, ROSSI, HINTERBERGER, SALIMBÉNI, etc.).

§ 11. — AGGLUTINATION ET ACCOLEMENT DES BACTÉRIES

Théorie de GRUBER, de Ch NICOLLE, de DINEUR, etc.

Le nom d'agglutination a été donné au phénomène de la formation d'amas microbiens sous l'influence des antisérums par GRUBER et DURHAM (1896). Ces auteurs

supposaient que sous l'action de l'agglutinine les membranes se gonflaient, devenaient visqueuses et provoquaient l'accolement des bactéries. Or, nous venons de le voir, aucun gonflement visqueux n'a pu être décélé jusqu'à ce jour chez les microbes ayant subi l'action de l'agglutinine seule.

Bien que consacré par une longue pratique, le terme d'agglutination est donc impropre puisque le phénomène n'a rien de collant, rien de *glutineux*.

GRUBER (1896) ayant reconnu que son hypothèse n'était pas confirmée par l'expérience, la modifia. Selon cette seconde théorie de GRUBER, il y aurait seulement formation, sur les bactéries d'aspérités collantes qui se produiraient soit du fait de l'action de l'agglutinine sur certaines parties de la membrane, soit par des dépôts de précipités d'agglutinine sur divers points de la surface microbienne. Cette nouvelle hypothèse, comme nous le verrons, n'est pas plus recevable que la première.

D'autres auteurs ont émis des théories analogues. ASAKAWA (1904) voyait la cause de l'accolement des bactéries dans le dépôt *d'aglutino-globuline* (1) sur la membrane bactérienne. Pour DINEUR (1898), une substance collante se formait ou se déposait sur les cils et ceux-ci s'enchevêtraient, ce qui déterminait l'agglutination. Cette dernière hypothèse doit être rejetée *a priori*, les microbes non ciliés et immobiles pouvant également être agglutinés.

Ch. NICOLLE (1898) a cru trouver dans la découverte de KRAUS un argument nouveau en faveur de la viscosité des bactéries agglutinées. KRAUS montra, en 1897, qu'une culture filtrée et limpide de vibrion cholérique addi-

---

(1) Voir chap. VI, § 1.

tionnée de sérum anticholérique donnait un précipité d'aspect floconneux, rappelant celui des microbes véritablement agglutinés. Cette propriété des filtrats de donner un précipité avec leur antisérum est très fréquente surtout dans les vieilles cultures. Elle est spécifique comme l'agglutination. Ch: NICOLLE admet que la substance agglutinable issue du microbe, rencontrée dans les filtrats, où elle est floconnisée par l'agglutinine, provient des couches externes des microbes.

Dans les corps bactériens, cette couche périphérique sous l'influence de l'agglutinine « se gonfle, devient apparente, se soude à la couche externe des individus voisins » (NICOLLE). Ainsi expliquée, l'expérience de KRAUS est raccordée à la théorie de GRUBER. Mais cette interprétation du phénomène de KRAUS en faveur de l'hypothèse de la viscosité des surfaces bactériennes ne pourrait être admise qu'autant qu'on constaterait l'existence d'une transformation dans la membrane microbienne ; ce qui n'est pas conforme à l'expérience. De plus, la substance agglutinable que NICOLLE place dans la partie externe des bactéries paraît être, au contraire, répartie uniformément dans les corps microbiens à l'exclusion de la membrane (chap. III, p. 4). Les partisans de la viscosité des bactéries agglutinées prétendaient que l'invisibilité de la couche visqueuse n'était pas une preuve *a priori* de sa non-existence, étant donné la petitesse des microbes. Mais on a pu citer des cas d'agglutination de champignons et de levures de taille beaucoup plus considérable (DEFALLE, 1902) qui ne présentaient pas de gonflement de la membrane dû à l'agglutinine (1).

---

(1) LASSEUR (inédit) détermine l'agglutination des spores de *mésentericus niger*, de *B. megathérium* par leur antisérum homo-

On pourrait déjà, rien qu'à cause de l'invisibilité d'une couche visqueuse, écarter la théorie de GRUBER. Mais il y a plus : Les bactéries agglutinées ne se manifestent nullement comme des organismes visqueux et collants. Bien que réunies en îlots, elles ne paraissent pas adhérer intimement les unes aux autres. Comme le montre BORDET, « les préparations de tétanos agglomérés, par exemple, rappellent l'aspect de paquets d'épingles qu'on aurait laissé tomber par groupe assez négligemment sur une table ». Les bâtonnets rigides et d'aspect tout à fait normal s'entrecroisent dans tous les sens et en **laissant entre eux des intervalles souvent assez larges.**

L'observation précitée de BORDET est confirmée par LASSEUR pour *B. balticus*. Ces germes agglutinés se présentent toujours en amas réticulés dans lesquels les éléments microbiens ne paraissent pas se toucher. L'examen des streptocoques agglomérés fournit des constatations analogues. BORDET, examinant en goutte pendante du bouillon contenant des vibrions agglutinés, les a vus se séparer rien que par le chauffage à 60°. On sait également que l'on peut réémulsionner assez facilement des microbes agglutinés par simple agitation dans l'eau distillée. On peut encore citer cette expérience de GRUBER, qui n'est pas en faveur de sa théorie, ainsi que le fait remarquer

---

logue. Au bout de quelques heures, on peut assister, non seulement à l'agglutination des spores microbiennes, mais encore à leur germination. A un stade assez jeune de leur développement, on aperçoit très distinctement et la membrane et le bâtonnet germinatif. A un stade plus avancé correspondant à la mise en liberté du bâtonnet germinatif, la membrane apparaît sous forme d'un 3 accolé à l'extrémité du bâtonnet. Il n'est donc pas possible, dans le cas particulier, d'invoquer la non-visibilité de la membrane. Celle-ci, colorée ou non, ne laisse jamais voir aucun gonflement.

Nolf (1900). Gruber avait mélangé à une culture microbienne qu'il allait agglutiner des germes d'une autre espèce et des particules inorganiques de nature variée. Il constatait, lorsque lagglutination était terminée, que la plupart des particules étaient restées libres ainsi que les microbes hétérologues. Si les cellules agglutinées étaient réellement visqueuses, elles auraient entraîné par une action mécanique les éléments hétérogènes. Enfin, on peut encore faire remarquer que jamais ni globules, ni microbes agglutinés ne collent au vase qui les contient : ce fait semble infirmer fortement à lui seul la théorie de la viscosité, au sens de Gruber.

Au surplus, toutes ces hypothèses qui admettent l'existence d'une couche visqueuse pour expliquer le phénomène de l'agglutination ne s'attachent pas à l'essentiel. « On conçoit bien, écrivait Bordet, déjà en 1896, que la viscosité des surfaces puisse s'opposer à la séparation des microbes en contact, mais on ne voit pas clairement comment elle aurait pour effet de les faire venir au devant l'un de l'autre surtout quand il s'agit de bactéries immobiles. » (Bordet, Ann, Pasteur, 1896, p. 207). La théorie de Gruber est aujourd'hui complètement abandonnée.

§ 12. -- AGGLUTINATION ET PRÉCIPITÉ EXTRA-MICOBIEN

Théorie de PALTAUF

La découverte de Kraus a donné lieu aussitôt à une interprétation de phénomène ayant plus d'apparence de vérité. Paltauf, en 1897, a considéré l'agglutination comme une conséquence de la précipitation du filtrat par le sérum. Selon cet auteur, « les microbes sont entraînés

mécaniquement dans un coagulum né dans le liquide ambiant en dehors des microbes et dû à la réaction de l'agglutinine sur la matière microbienne agglutinable ». (d'après BORDET).

Le précipité de KRAUS peut, en effet, entraîner des cellules ou des particules inertes. La plupart des précipités, d'ailleurs, soit albumineux, soit même inorganiques, sont capables, en se rassemblant, d'englober des particules en suspension dans le liquide. KRAUS et SENG (1899) ont réalisé cette expérience avec des grains colorés de carmin ou d'outre-mer. NICOLLE (1904) a montré que le précipité provoqué par le sérum actif dans le filtrat de culture entraîne dans son agglomérat des particules inertes ajoutées au liquide : de la poudre de talc, par exemple. CALCAR, en émulsionnant dans le filtrat d'une culture microbienne déterminée des bacilles d'une autre espèce, a vu que ceux-ci étaient entraînés par le précipité formé dans le filtrat. Ainsi donc, l'hypothèse de PALTAUF a pour elle une certaine vraisemblance, mais on s'est aperçu dans la suite qu'elle ne s'accordait pas avec beaucoup de faits.

En effet, on ne peut pas réaliser le précipité de KRAUS dans toutes les cultures. On l'obtient habituellement avec des bouillons filtrés, surtout si les cultures sont âgées. Lorsqu'on filtre un bouillon de vingt-quatre heures ou qu'on prépare une émulsion de bacilles jeunes qui ne cèdent que peu de produit au milieu liquide, on peut très bien n'obtenir aucun précipité par le sérum correspondant et cependant ces bacilles jeunes sont les plus agglutinables. De plus, même quand un précipité de KRAUS a lieu dans le filtrat, il se forme beaucoup plus tard que l'agglutinat des corps microbiens ; il suffit parfois de moins d'un quart d'heure pour apercevoir l'agglu-

tination alors que la précipitation ne se produit qu'après plusieurs heures. Enfin, alors qu'on obtient une agglutination encore nette avec un sérum à 1/100.000, par exemple, le même sérum dilué au 1/50 ne produit déjà plus aucun précipité dans le filtrat.

Paltauf, à l'appui de sa théorie, prétend que l'invisibilité du précipité de Kraus n'est pas une preuve de son absence. La substance agglutinable répandue dans le milieu liquide y est vraisemblablement à l'état colloïdal. Or, les particules colloïdales, plusieurs milliers de fois plus petites que les bactéries, peuvent commencer à se réunir en un précipité très ténu formé de plusieurs de ces particules en suspension dans le liquide et encore invisible au microscope. On sait, en effet, que dans certaines solutions colloïdales de métaux, une agglomération de particules n'entraînant pas la formation de précipité visible peut se révéler par des changements de couleurs. On pourrait, par analogie, concevoir la présence d'une condensation de particules dans le filtrat, mais on ne voit pas de quelle façon la réunion de plusieurs de ces particules en un amas si fin qu'il reste invisible au microscope pourrait entraîner les uns vers les autres, les microbes beaucoup plus volumineux. De plus, s'il s'agissait d'un entraînement mécanique par la réunion de ces particules, **les germes hétérogènes devraient être également agglutinés,** or il n'en est rien. Lorsqu'il n'y a aucun précipité visible dans un filtrat par addition de sérum homologue, il n'y a aucune agglutination de germes hétérogènes émulsionnés dans ce filtrat. Bien plus, dans certains cas même, on peut obtenir un précipité de Kraus sans entraîner l'agglutination de cellules hétérologues. C'est ce que Bordet a montré (Ann. Pasteur, 1899) avec son sérum de lapin précipitant le sang de pigeon, mais

non les hématies qu'il contient. On n'est donc nullement fondé à considérer l'agglutination comme une conséquence de la formation d'un précipité extra-microbien.

§ 13. — ANALOGIE AVEC LA PRÉCIPITATION

Le phénomène de KRAUS nous laisse pressentir une analogie entre l'agglutination des bactéries et la précipitation des filtrats.

L'agglutination des microbes par leur antisérum est due non pas aux microbes eux-mêmes, en tant qu'éléments organisés, mais à des produits qu'ils secrètent et qui forment la **substance agglutinable.** NICOLLE (1898) l'a montré en rendant de vieilles cultures typhiques inagglutinables par lavage prolongé. Les propriétés agglutinables enlevées aux microbes se retrouvaient dans l'eau de lavage. On peut donc admettre que la substance agglutinable peut diffuser hors des corps bactériens et dans les liquides de lavages où elle détermine la formation d'amas par l'addition d'antisérum. L'expérience de NEUFELD (1902) confirme cette hypothèse. Cet auteur ayant dissout des pneumocoques dans la bile de lapin obtient la précipitation avec un immunsérum pneumococcique de la même façon qu'il avait obtenu l'agglutination des pneumocoques intacts. La substance agglutinable contenue dans les pneumocoques a donc été libérée par dissolution des bactéries.

L'analogie entre l'agglutination des microbes et la précipitation des filtrats nous apparaîtra complète lorsque nous verrons que ceux-ci sont également agglutinogènes. WIDAL et SICARD, LÉVY et BRUNS ont, en effet, démontré

déjà en 1897 que les filtrats de bouillons typhiques injectés à des animaux fournissaient un antisérum typhique agglutinant. Ainsi dans les microbes, il existe une substance agglutinogène qui peut passer dans les filtrats.

Nous voyons donc qu'il n'y a aucune différence essentielle entre la précipitation et l'agglutination. Celle-ci résulte de l'action de l'antisérum sur une substance contenue dans les bactéries, et la précipitation, de l'action du même sérum sur la même substance, mais prise hors de la cellule d'origine. La substance agglutinable est précipitée par son antisérum qu'elle soit à l'état de pseudo-solution ou à l'état figuré ; WIDAL et SICARD considéraient « qu'un microbe peut être assimilé à un grain de matière agglutinable moulée dans la gangue protoplasmique ».

Le phénomène de la préciptation est très général et ne s'applique pas seulement aux produits bactériens. TCHITSCHOWITCH (1899) a observé que le sérum d'un lapin injecté à plusieurs reprises de sérum d'anguille trouble ce liquide. BORDET, en 1889, a obtenu un sérum précipitant le lait. Depuis, de nombreuses expériences ont prouvé que toute substance albuminoïde d'origine animale ou végétale, injectée à un animal d'une espèce différente, détermine la formation d'anticorps précipitant. Cette réaction de précipitation a un caractère de spécificité assez marqué, pour qu'on ait pu créer une méthode d'identification des substances animales ou végétales au moyen des antisérums, méthode dont les applications en matière d'expertises médico-légales sont exprêmement nombreuses (méthode d'UHLENHUTH).

En résumé, **l'agglutination nous apparaît comme un cas particulier de la précipitation.**

§ 14. — L'AGGLUTINATION PHÉNOMÈNE D'ATTRACTION MOLÉCULAIRE

Théorie de BORDET

Bordet ayant montré que le phénomène de l'agglutination avait lieu pour des bactéries tuées, l'explication du phénomène par une action vitale était tout à fait irrecevable. D'autre part, ce savant repoussait également la conception de Grüber comme insuffisante. La viscosité des surfaces ne pouvait être mise en évidence. L'aurait-elle été d'ailleurs qu'elle n'eut pas expliqué le rapprochement des microbes, et c'est là l'essentiel du phénomène. Quelle est donc la cause de ce rapprochement ? Nous avons vu qu'il ne fallait pas la chercher, comme le supposait Paltauf, dans la formation d'un précipité extramicrobien qui n'existe pas toujours et qui, même lorsqu'il existe, peut ne pas floconniser des bactéries hétérologues en suspension dans le liquide. Bordet a émis une hypothèse qui explique d'une façon satisfaisante le rapprochement des microorganismes. Déjà en 1896, avant que ne fut connue l'agglutination des bacilles tués et l'existence d'un précipité de Krauss, Bordet avait eu l'impression que le phénomène « rentrait plutôt dans le cadre de la physique moléculaire ». « Des influences légères, dit-il, suffisent à produire l'agrégation de précipités chimiques qui, auparavant, restaient disséminés dans une liqueur. Il est probable que le sérum agissant sur les microbes change les relations d'attraction moléculaires entre les microbes et le liquide ambiant (Bordet : mécanisme de l'agglutination, Ann. Pasteur,

p. 227, 1899) ; ainsi, d'après cette théorie, l'agglutination n'est autre qu'un *phénomène d'attraction de particules en suspension* dans un liquide.

Bordet citait comme phénomène de même ordre la précipitation de particules d'argile en suspension dans une liquide, par l'addition de chlorure de sodium. L'introduction du sel dans le milieu change les relations d'attraction existant entre les particules d'argile, l'équilibre de la suspension est rompu, les particules se déposent au fond du liquide.

Les expériences de Duclaux sur la coagulation du lait amenèrent Bordet à étendre son analogie à la physique des particules organiques et à comparer l'agglutination au phénomène de la *coagulation*. « Qu'est-ce, en effet, que l'agglutination ? C'est la réunion en amas de particules organisées d'abord éparses, qu'une influence spéciale a impressionnées et dont les propriétés d'adhésion moléculaire ont changé. Qu'est-ce, en effet, que la coagulation, d'après M. Duclaux ? C'est la réunion en groupement de particules — pouvant du reste être parfois extrêmement divisées, présenter même au sein d'un liquide les apparences d'une solution — de particules dont les relations d'adhésion moléculaire d'une part avec le liquide, dautre part avec les particules voisines, ont été modifiées sous une certaine influence. Avant l'intervention de cette influence, le liquide restait homogène » (Bordet). Cette influence se faisant sentir, l'état d'équilibre entre la pesanteur et les forces moléculaires est modifié, la force d'attraction entre les particules est augmentée, elles se réunissent en flocons. Dans les deux cas : agglutination et coagulation, pas de différence essentielle, elles sont produites toutes deux par des forces d'attraction.

L'hypothèse que faisait à cette époque DUCLAUX, lorsqu'il concevait le lait comme une suspension de particules de caséine très ténues, a trouvé dans les progrès de l'étude des colloïdes une confirmation éclatante. Le lait doit être, en effet, envisagé comme une suspension colloïdale de caséine et l'analogie entre l'agglutination des bactéries et la précipitation du lait a pu être étendue à la plupart des matières colloïdales d'origine organique (albumine du sang, de l'œuf, etc.).

Cette théorie de BORDET, loin d'être infirmée par le phénomène de KRAUS, en rend compte mieux que toute autre. Plus générale que la théorie de GRUBER, elle s'applique également à la précipitation des filtrats, si l'on admet que, dans ceux-ci, la substance précipitable est à l'état de fines particules suspendues dans le liquide. Or, cette manière de concevoir la substance agglutinable ou précipitable est généralement admise aujourd'hui, car on l'assimile, à bon droit, aux colloïdes (voir chap. VII, § 5) précisément caractérisés par la propriété de former avec l'eau des pseudo-solutions.

Jusqu'ici, la *coagulation* et l'*agglutination* se sont révélées semblables par leur mécanisme. Poussant l'analogie plus loin, BORDET a montré que les causes de ces deux phénomènes pouvaient être les mêmes. La coagulation des substances colloïdales de nature albuminoïde, et notamment du lait, peut être provoquée par différents agents : acides, sels, certains corps organiques, etc., mais aussi par les anticorps secrétés dans un organisme après injection de lait. Dans le sang, une précipitine se forme qui se fixe sur les particules de lait en suspension et les coagule. De plus, nous l'avons vu, la fixation de l'agglutinine sur les microbes ne détermine pas la floconnisation des bactéries en l'absence de sel marin,

De même, la fixation d'une précipitine du lait sur les particules de caséine ne saurait amener la coagulation en l'absence de sel (Rostoski, 1902).

L'analogie entre la coagulation du lait et des substances organiques d'origine animale ou végétale, d'une part, et la précipitation des filtrats et l'agglutination des bactéries, d'autre part, est d'autant plus frappante que, nous le verrons plus loin, les bactéries elles aussi, peuvent être agglutinées par d'autres agents que par leur agglutinine spécifique : les acides, certains sels et corps organiques.

L'agglutination semble donc bien être un phénomène physique analogue à la coagulation des substances colloïdales.

De quelle nature est la première phase du phénomène de l'agglutination ? Faut-il la considérer comme une combinaison chimique ou comme une union simplement physique, comme une adhésion moléculaire ? Bordet admettait déjà cette dernière manière de voir. Depuis, les travaux d'Einsenberg et Volk (1902), et ceux de Dreyer et Douglas (1910) (Chap. VII, § 1), sur les conditions dans lesquelles s'effectue la fixation de l'agglutinine par la substance agglutinable, plaident plutôt contre l'hypothèse d'une combinaison chimique — sans apporter cependant une preuve irréfutable. D'après ces auteurs, il est beaucoup plus vraisemblable d'admettre une union physique analogue aux phénomènes de teinture, qui sont analogues eux-mêmes aux phénomènes d'adsorption d'un colloïde par un autre colloïde (voir Chap. VII).

La notion de spécificité, à première vue, semblerait s'accorder davantage avec l'hypothèse d'une combinai-

son chimique comme celle d'un acide avec une base, par exemple. Mais on peut également baser sur des propriétés physiques des corps en présence (grosseur des particules, charge électrique, etc.) leurs affinités spécifiques (voir Chap. VII).

De quelle façon s'opère maintenant la deuxième phase du phénomène, ou la floconnisation par l'action du sel ? Celui-ci est-il, dans une certaine mesure, absorbé par les bactéries chargées d'agglutinine, ou par le complexe anticorps-antigène ? La question n'est pas encore résolue. Il semble, d'après Joos (1902) qu'il y ait absorption de chlorure de sodium. Cette absorption est-elle une combinaison chimique ou un phénomène d'adsorption ? Ceci également reste indéterminé. Quoiqu'il en soit, il paraît probable que cette absorption n'est pas la cause de la floconnisation et que la présence du sel dans le liquide intermicrobien est nécessaire à la floconnisation (voir Chap. VII, § 6).

En dernière analyse, le phénomène de l'agglutination nous apparaît comme étant probablement une union, adsorption de l'agglutinine et de la substance agglutinable, suivie de la floconnisation de ce complexe par un électrolyte.

RÉSUMÉ DU CHAPITRE I

Lorsqu'un organisme vivant est infecté par une bactérie quelconque, le sang de cet organisme acquiert la propriété de précipiter une suspension du microbe infectant. On admet que ce phénomène est dû à une substance appelée agglutinine formée dans l'organisme au cours de l'infection et qui agit en se fixant spécifiquement sur la bactérie homologue.

L'agglutination n'est pas un phénomène biologique, puisqu'elle se produit avec les microbes tués ; elle n'est pas davantage un phénomène de bactériolyse, car les germes agglutinés demeurent vivants et ne sont aucunement altérés. L'agglutination n'est due ni à un accolement des bactéries, ni à un entraînement mécanique de celles-ci par un précipité extra-microbien ; elle apparaît comme un phénomène de « physique moléculaire », comme une rupture de l'équilibre de la suspension bactérienne comparable à la coagulation d'une suspension colloïdale.

CHAPITRE II

L'ANTIGÈNE

AGGLUTINABILITÉ DES BACTÉRIES

§ 1. - DE L'AGGLUTINABILITÉ EN GÉNÉRAL

a) Définition

L'agglutinabilité est la propriété que possèdent les cellules vivantes ou mortes en suspension au sein d'un liquide de se réunir en amas sous l'influence d'agents divers.

b) Equilibre des suspensions cellulaires

Généralement lorsqu'on ensemence des bactéries mobiles ou non dans un bouillon de culture, les microbes se répandent uniformément dans le liquide par le seul fait de la végétation. Dans le cas des bacilles mobiles, ceux-ci peuvent se disséminer dans le liquide par le mouvement vibratoire de leurs fouets.

Lorsqu'il s'agit de microbes dépourvus de fouets, le mouvement qui résulte des échanges entre les cellules

et le milieu liquide ainsi que les courants de convexion sont vraisemblablement la cause de cette dispersion des cellules. Si l'on opère sur des bactéries tuées ou des cellules mortes telles que hématies ou spermatozoïdes, etc..., on peut réaliser également une émulsion homogène et durable par l'agitation de ces cellules dans le liquide. Etant donné la nature colloïdale du protoplasma des cellules répandues uniformément dans le liquide, on peut admettre qu'il s'établit entre elles et le milieu un état d'équilibre analogue à celui observé pour les suspensions colloïdales. Certains agents peuvent provoquer une rupture de cet équilibre et il y a agglutination.

c) Causes diverses de l'agglutination

La réunion en amas des bactéries peut être provoquée par de nombreuses substances chimiques en solution : acides, sels, composés organiques, par des produits cellulaires ou microbiens (1), enfin par des sérums normaux ou des antisérums. L'agglutination par les sérums spécifiques humains ou animaux est celle qui fait l'objet de notre étude. Nous ne nous intéresserons qu'accessoirement aux autres formes d'agglutination, comme celles qui pourraient, par exemple, être une cause d'erreur dans l'identification des bactéries ou la pratique du séro-diagnostic.

---

(1) MALVOZ (1899) a montré, en effet, qu'une vieille culture de charbon filtrée peut précipiter une émulsion de bacilles du charbon.

d) Variation de l'agglutinabilité suivant les espèces et suivant les individus

L'agglutinabilité est une propriété commune à la plupart des êtres vivants unicellulaires. Ch. NICOLLE (1902) tient pour probable qu'à un degré variable tous les microbes et toutes les cellules libres possèdent cette qualité.

L'agglutinabilité varie avec les espèces bactériennes. On sait que certains microbes sont extrêmement sensibles à l'action de leur antisérum et que d'autres le sont beaucoup moins. Le bacille typhique peut encore être agglutiné par du sérum dilué à 1/100.000, tandis que le bacille de FRIEDLANDER n'est jamais agglutiné par son sérum homologue dilué à plus de 1/40. NICOLLE et TRENEL ont établi en 1902 une classification des bactéries d'après l'agglutinabilité. Dans un premier groupe, ils plaçaient les plus agglutinables telles que le bacille d'EBERTH, différentes races de bacille coli, le bacille de la psittacose, les bacilles dysentériques, le vibrion cholérique et les germes voisins, le bacille pyocyanique, les protéus le bacille cyanogène. Une deuxième catégorie de microbes moins agglutinables comprenait le bacille diphtérique, le bacille de NICOLAIER, le vibrion septique, le bacille de CHAUVEAU, le bacille de KOCH, le bacille de la peste et celui de la morve, les champignons, les levures. Enfin venait une catégorie de microbes à peine agglutinés et seulement avec un sérum très concentré : le bacille de l'influenza, le méningocoque, le bacille de FRIEDLANDER, B. *mucosus* et la plupart des bacilles encapsulés.

Depuis, on a pu obtenir des sérums plus actifs et cette liste serait à modifier, le bacille de NICOLAIER notamment qui était classé parmi les microbes peu agglutinables peut

être très bien agglutiné. On a obtenu des sérums l'agglutinant au taux de 1/50.000 (Courmont). Cette agglutinabilité des espèces microbiennes n'est pas elle-même constante. Parmi les espèces les mieux agglutinables, nous pouvons trouver des races ou seulement des échantillons moins agglutinables ou plus agglutinables que les bacilles normaux. Le bacille d'Eberth notamment est parfois inagglutinable par un immunsérum typhique. Nous verrons cette question plus en détail au paragraphe 2.

e) Importance de l'agglutinabilité

Nous savons que le phénomène de l'agglutination spécifique peut se diviser en deux phases : 1° la fixation de l'agglutinine sur l'antigène ; 2° l'agglutination visible qui s'en suit. Le phénomène capital et le seul spécifique est la première phase. Or, c'est la seconde seule qui est révélatrice de la première. Il est donc nécessaire, lorsqu'on recherche la présence d'agglutinine dans un sérum de s'adresser à un échantillon microbien normalement agglutinable ; une culture accidentellement inagglutinable ne pourrait nous donner aucun résultat. De même lorsqu'on veut identifier une bactérie par l'agglutination, il ne faut pas oublier qu'elle peut être accidentellement inagglutinable. Comme il est nécessaire pour cette identification qu'elle possède son agglutinabilité normale, il faudra la lui rendre par les procédés que nous indiquerons plus loin (paragr. 4). On peut cependant identifier une culture bactérienne non agglutinable en la mettant en contact avec un sérum et en recherchant ensuite, par l'addition d'une culture bien agglutinable à ce sérum décanté, si celui-ci a perdu ou non son agglutinine au contact de la première culture. C'est ce qu'on appelle l'essai d'absorption spécifique.

§ 2. — INAGGLUTINABILITÉ ET HYPO-AGGLUTINABILITÉ NATURELLES DES BACTÉRIES.

L'agglutinabilité, nous l'avons dit, peut varier d'une espèce à l'autre et au sein d'une même espèce ; telle espèce bien agglutinable normalement peut fournir des échantillons même complètement dépourvus d'agglutinabilité. « On croyait autrefois que les bacilles d'*Eberth*, par exemple, quelle qu'en fut l'origine, présentaient tous une sensibilité à peu près égale à l'action d'un sérum spécifique. En effet, toute une série d'échantillons provenant de laboratoires très divers se montrèrent agglutinables aux mêmes doses limites, les variations individuelles furent très restreintes. » De cela, les premiers expérimentateurs concluaient que le taux d'agglutination maxima reste le même quel que soit l'échantillon de bacille d'Eberth mis en expérience. Cependant déjà en 1896, Achard et Bensaude ont observé le contraire. Widal et Sicard (1896) ont vu que le sérum des malades agglutinait moins le bacille pris sur le malade qu'une espèce de laboratoire. Depuis des échantillons nombreux peu ou pas sensibles à l'action des agglutinines ont été retirés d'eaux typhogènes et d'organismes de typhiques pendant le cours de la maladie ou après la mort. Courmont (1897) a isolé du sang de typhiques des bacilles d'une agglutinabilité inférieure à la normale. Sacquépée (1901) constate que les bacilles typhiques prélevés sur les malades ou sur les cadavres ont en général une agglutinabilité moindre que ceux des laboratoires. Des constatations analogues ont été faites par Rehns (1901), Bancel (1902), Ro-

DET (1897, COLE (1904), BUXTON et VAUGHAN (1904), ROBITCHEK et NATONECK (1905), EUGLING et GRASSBERGER (1908), etc., pour des bacilles typhiques de différentes provenances.

NICOLLE et TRENEL (1902) ayant expérimenté sur 10 rates de malades atteints de fièvre typhoïde, ont conclu que « d'une manière générale leurs expériences ont confirmé celles des auteurs précédents. Le bacille typhique isolé récemment de la rate de l'homme se montre le plus souvent parfaitement sensible à l'action du sérum spécifique, mais dans un certain nombre de cas cette sensibilité est, ou très affaiblie, ou nulle ». CAMBIER et EMERY (1902), REMY (1900), SACQUÉPÉE (1901) ont retiré des eaux des bacilles typhiques inagglutinables. Le bacille d'EBERTH n'est d'ailleurs pas seul à révéler des variations individuelles eu égard à l'agglutinabilité : un échantillon de bacille pyocyanique isolé sur un malade par EISENBERG (1902) s'est montré presque insensible à l'action de son antisérum. Par contre, le vibrion cholérique récemment isolé d'un malade ou d'un cadavre ne présente pas une agglutinabilité diminuée ; ZLATOGOROFF (1904) prétend avoir retiré d'une eau infectée un vibrion cholérique inagglutinable, mais KOHLICH (1910) n'a rien pu obtenir de semblable et admet que les vibrions de Zlatogoroff ne sont pas des vibrions cholériques vrais.

Dans toutes les expériences précédentes, l'absence d'agglutinabilité n'est que passagère, elle reparaît par réensemencements successifs. Pour certains échantillons, NICOLLE et TRENEL (1902) ont montré qu'elle redevient normale dès la première culture.

Ajoutons que toutes les cultures bactériennes accidentellement inagglutinables continuent à fixer l'agglutinine et possèdent comme les autres le pouvoir agglutinogène (BUXTON et VAUGHAN 1904).

§ 3. — INAGGLUTINABILITÉ PROVOQUÉE

a) Par la température de la culture

On peut provoquer expérimentalement l'inagglutinabilité d'un échantillon bactérien par différents procédés. NICOLLE et TRENEL (1902) ont indiqué pour le bacille typhique l'emploi de la culture à 42°. A cette température, une culture de bacille typhique normalement agglutinée par un immunsérum se développait régulièrement, mais elle n'était plus agglutinable par le même immunsérum qu'à la dilution de 1/10, alors que l'agglutinabilité normale était de 1/3.000. Cet échantillon cultivé ensuite à 36° reprenait rapidement son agglutinabilité normale.

D'après KIRSTEIN (1904) *B. prodigiosus* cultivé à 37° présente une agglutinabilité moins grande qu'à la température ordinaire ; il se produit en même temps une perte du pouvoir chromogène suivie d'une disparition des capsules. SHIBAYAMA (1905) trouve que les bacilles de la peste cultivés à 37° sont plus difficilement agglutinables que ceux maintenus à la température du laboratoire. Les résultats de ces procédés de culture à une température plus élevée que la normale ne sont pas généraux ; le vibrion cholérique, par exemple, y est insensible.

b) Par la nature du milieu de culture

La culture sur certains milieux peut influencer également le degré d'agglutinabilité. TARCHETTI (1898), en cultivant du bacille typhique sur du bouillon glycériné additionné de soude, constate une forte diminution de l'agglutinabilité. D'après LAUBENHEIMER (1909), le vibrion

cholérique cultivé sur le milieu alcalin de DIEUDONNÉ devient moins agglutinable (1). ALMAGIA (1906) constate aussi de l'hypoagglutinabilité chez les bacilles dysentériques cultivés sur « gélatine cuite ». GLÆSSNER (1905) a trouvé que pour le colibacille et le bacille d'EBERTH, l'agglutinabilité variait suivant la nature du composé azoté fourni au microbe par le milieu de culture : sur un milieu contenant des acides aminés, elle était moindre que sur un milieu véritablement albumineux.

Dans ces différents cas, le manque d'agglutinabilité n'est pas dû à un manque d'absorption de l'agglutinine par les microbes. EISENBERG, PORGES et EISLER (1906) l'ont constaté dans de nombreuses expériences. Lorsqu'on centrifuge des bacilles devenus complètement inagglutinables et additionnés de sérum homologue, on constate que le sérum surnageant a perdu ses propriétés agglutinantes pour d'autres échantillons de culture bien agglutinable. Les bacilles inagglutinables ont donc absorbé toute l'agglutinine.

c) Par le chauffage, l'acidification ou l'alcalinisation de l'émulsion bactérienne

Il existe aussi une autre inagglutinabilité toute artificielle constatée par WIDAL et SICARD (1897), EISENBERG et VOLK (1902), JOOS (1903), etc., et spécialement étudiée

(1) Ces données sont en concordance avec les observations inédites de LASSEUR : les bactéries chargées d'agglutinine sont précipitables par les acides et par les sels neutres, mais non par les alcalis. De même, les bactéries normales émulsionnées dans l'eau distillée sont précipitables par les acides et non par les alcalis.

par PORGES (1905), celle due au chauffage d'une culture de 65° à 80°. Le bacille typhique chauffé à cette température est mal agglutiné. Après un certain temps de chauffage, l'agglutinabilité disparaît complètement, surtout si la température est portée à 80° (1). De plus, ces auteurs ont constaté un phénomène semblable après addition à une culture typhique d'une solution acide ou alcaline (2). PORGES a employé une solution quart-normale d'acide chlorhydrique. Après un séjour d'une heure à l'étuve à 37°, l'agglutinabilité est disparue, même après une neutralisation soigneuse. KRAUS et JOACHIM (1904) ont montré que les filtrats de cultures perdaient également leur agglutinabilité par le chauffage à 60°-70°. Dans ces différents cas, l'agglutinabilité reparaît en partie par un chauffage prolongé à 100°. Ici encore le manque d'agglutinabilité des bacilles ou des filtrats n'est pas dû au manque d'absorption de l'agglutinine par la culture, puisque le sérum qui a été en contact avec une culture chauffée n'est plus agglutinant, après centrifugation, pour des bacilles normaux. Ce procédé ne donne pas de résultats constants, car les vibrions cholériques chauffés à 70° n'en continuent pas moins à être agglutinés ; toutefois par l'acidification leur agglutinabilité est diminuée. L'addition de certains sels et de certains produits organiques

(1) DREYER et BLAKE (1906) ont montré que l'inagglutinabilité obtenue par le chauffage ne suit pas une marche régulière, l'agglutinabilité diminue faiblement lorsqu'on porte l'émulsion bactérienne à 60°. et au-delà, puis tombe brusquement aux environs de 80°.

(2) L'emploi de l'acide chlorhydrique plus dilué amènerait au contraire l'agglutination des bactéries même en l'absence d'agglutinine (voir appendice agglutination chimique).

à une émulsion bactérienne rend l'agglutination plus difficile. NEISSER et FRIEDMANN (1904), citent comme exemples : le sulfate d'ammoniaque et la glycérine en solution concentrée.

d) Par le vieillissement des cultures

Certains auteurs ont prétendu que de très vieilles cultures perdent leur agglutinabilité. D'après DREYER et BLAKE (1906), l'âge des cultures sur gélose de bacilles typhiques et de bacilles coli n'influe en rien sur l'agglutinabilité de ces microbes. Il n'en est pas de même pour les cultures en bouillon qui deviennent moins agglutinables avec le temps. Toutefois NICOLLE et TRENEL (1902) n'ont rien vu de semblable. Ces auteurs ont conservé pendant quatre ans dans sept pipettes scellées des échantillons de bacilles typhiques légitimes et bien agglutinables. « Après ce temps, les cultures filles obtenues avec les réensemencements en bouillons de ces sept échantillons se sont montrées sensiblement aussi agglutinables par l'action d'un sérum expérimental qu'une culture étalon. » (*Ann. Pasteur* 1902, p. 572.)

e) Par culture sur milieu contenant de l'antisérum

L'inagglutinabilité peut encore être produite, pour certaines bactéries, par leur culture sur un milieu contenant de leur antisérum. RANDSOM et KITASHIMA (1908) observèrent le fait pour le vibrion cholérique. TH. MULLER (1903), KIRSTEIN (1908), etc., ont constaté une diminution considérable de l'agglutinabilité des bacilles typhiques cultivés dans un bouillon contenant une forte proportion de leur

antisérum ; l'agglutination ne se produisait plus qu'à la dilution de 1/50 au lieu de 1/50.000 pour des bacilles non cultivés sur antisérum. Déjà SACQUÉPÉE en 1901 avait montré qu'on pouvait obtenir des bacilles typhiques hypoagglutinables en cultivant pendant 3 mois le bacille d'EBERTH en sacs de collodion inclus dans la cavité péritonéale de rats fortement immunisés contre le bacille typhique. Ce procédé ne donne pas de résultats constants et certains auteurs comme WALKER (1902), COHNE (1904), n'ont pas constaté de diminution d'aglutinabilité par la culture sur antisérum. TARCHETTI (1898) aurait trouvé au contraire une augmentation de l'agglutinabilité, enfin NICOLLE (1898) a cultivé un bacille typhique sur antisérum qui devenait spontanément agglutinable et conservait cette propriété pendant plusieurs générations. Cette expérience l'amena à décrire le premier le phénomène de l'agglutination spontanée dont nous parlerons au paragraphe 10.

HAMBURGER (1903) observa le même phénomène chez des vibrions cholériques cultivés sur antisérum. Suivant Th. MULLER qui admet l'inagglutinabilité par culture sur antisérum non seulement la floconnisation des bactéries serait empêchée, mais il y aurait de plus diminution dans la fixation de l'agglutinine, mais d'autres expérimentateurs n'ont pas constaté cette diminution du pouvoir absorbant dans ces conditions. PFEIFFER et FRIEDBERGER (1902) auraient au contraire trouvé un accroissement d'absorption.

f) Par lavage prolongé des vieilles cultures

Enfin Ch. NICOLLE (1898), a indiqué un autre procédé pour rendre inagglutinables les bacilles typhiques. Il lave abondamment une vieille culture de bacille d'EBERTH dont les microbes sont tous morts. La lixiviation prolongée de cultures jeunes ne les rend pas inagglutinables.

§ 4. — RÉAPPARITION DE L'AGGLUTINABILITÉ

On n'a pu à notre connaissance sélectionner de races définitivement inagglutinables de bacilles typhiques ni d'autres bacilles bien agglutinables dans les conditions normales. Par le repiquage sur les milieux usuels ou, avec le temps, elles recouvrent leur agglutinabilité primitive. Sacquépée (1901), a vu même que des cultures de bacilles d'Eberth inagglutinables, conservées en tubes clos pendant 6 mois avaient repris leur agglutinabilité normale. Rodet, en 1900, avait déjà fait des observations analogues.

On peut aussi, d'après les indications de Porges, faire réapparaître par le chauffage à 100° en milieu neutre ou à 80° en milieu acide, une agglutinabilité diminuée. On met en présence 10 cent. cubes d'émulsion de bactéries et 1 cent. cube d'acide quart-normal ; l'excès d'acide est rigoureusement neutralisé ; le tout est chauffé à 80° pendant 15 à 30 minutes. Jobling (1906) confirme les expériences de Porges et trouve que le bacille d'Eberth, chauffé à 100° redevient bien agglutinable. Dreyer et Blake (1906), ont vu que le chauffage discontinu à 100° finit par rendre au bacille coli son agglutinabilité disparue à 80°. Porges a également fait réapparaître l'agglutinabilité disparue chez des bacilles typhiques chauffés à 60° en les lavant et en les émulsionnant ensuite dans du sérum artificiel.

Chez les bacilles naturellement peu agglutinables, comme les bacilles encapsulés, on peut augmenter considérablement l'agglutinabilité par des méthodes appropriées

soit la culture à 8°, c'est le procédé de STREIT (1906), soit le chauffage à 80° en milieu alcalin, c'est le procédé de PORGES et PRANTSCHOFF (1906). Les échantillons ainsi traités sont rendus bien agglutinables non seulement par leur antisérum homologue, mais encore par les antisérums provenant de spécimens de même espèce non soumis à ces procédés et par conséquent demeurés inagglutinables.

D'autres moyens ont été indiqués pour exalter l'agglutinabilité de certaines cultures. SEHRWALD (1905), trouve que la culture sur pomme de terre accroît l'agglutinabilité du bacille d'EBERTH et celle de quelques autres microbes, cette particularité disparaît après passage sur un autre milieu. DE ROSSI (1904) expérimentant sur B. *typhosus*, B. *pyocyaneus*, B. *subtilis*, sur le staphylocoque blanc, etc... constatait que le chauffage pendant une heure à 58° augmentait l'agglutinabilité. Cette agglutinabilité plus grande se conservait pendant trois mois.

Quant à l'inagglutinabilité obtenue par lavage de vieilles cultures, comme l'indique NICOLLE, elle est définitivement perdue, aucun traitement ne saurait la faire réapparaître.

§ 5. — CAUSES DE L'INAGGLUTINABILITÉ CORPS EMPÊCHANTS

Nous savons que l'agglutination résulte de la fixation de l'agglutinine sur les microbes homologues. D'après les expériences d'EISENBERG et VOLK (1902), les bactéries devenues inagglutinables après avoir été portées à 65°, continuent à absorber l'agglutinine en même quantité, il est

donc peu probable que l'inagglutinabilité soit due à la destruction de la substance agglutinable. Pourquoi alors la floconnisation ne suit-elle pas la fixation ? Voici l'explication qu'en donnent Eisenberg et Volk (1902) et Wassermann (1903).

Se basant sur la théorie d'Ehrlich, ces auteurs veulent que l'on considère les bactéries comme des récepteurs de deuxième ordre, cest-à-dire ayant un groupe porteur de la propriété fixatrice et un autre de la propriété agglutinable. Le premier groupe serait thermostabile, et le second thermolabile à 65°. Cette conception ne peut pas être retenue, étant donné la réapparition de l'agglutinabilité par le chauffage à 100° ou par le lavage des bactéries. Comment ce groupe agglutinable détruit à 65° pourrait-il se régénérer à 100° ou par simple lavage ? La chose ne paraît guère explicable. Même en admettant avec Joos (1903) et contrairement aux expériences d'Eisenberg et Volk une diminution d'absorption, ce fait est incapable d'expliquer à lui seul l'inagglutinabilité totale. Il est plus vraisemblable d'admettre avec Porges (1905) que l'inagglutinabilité est due à la présence de « *corps empêchants* » (Hemmungskœrper) formés aux dépens de la protéine bactérienne, et *rendant la suspension plus stable*, de sorte que malgré la fixation de l'agglutinine sur le microbe l'équilibre n'est pas rompu. La conception de Porges diffère de celle d'Eisenberger et Volk en ce sens qu'elle attribue la stabilité survenue dans l'émulsion, non pas à une transformation dans la molécule de la substance agglutinable, mais à la formation de corps issus du protoplasma bactérien et pouvant être séparés de la substance agglutinable. Ces corps empêchants, Porges en a démontré expérimentalement l'existence puisqu'un lavage de microbes faisait réapparaître l'agglutinabilité ; le

chauffage à 65-70° a provoqué leur formation, le chauffage à 80° en milieu alcalin ou acide, hydrolyse ces corps, tout au moins partiellement, et l'agglutination réapparaît.

D'après Porges, Galeotti et d'autres auteurs, ces corps empêchants seraient issus du noyau des cellules. En effet, dans le filtrat d'une culture traitée par un alcali, et devenue de ce fait inagglutinable, ces auteurs ont trouvé les réactions de précipitation des nucléines et des glycoprotéides, et ont décélé la présence de phosphore et d'hydrate de carbone, toutes substances qui peuvent provenir de la décomposition des noyaux cellulaires. Les corps empêchants formés dans une culture sont hydrolisés par le chauffage à 100°. A cette température, les glycoprotéides sont décomposés et l'on retrouve du sucre réducteur. Il est donc probable que c'est à des corps dérivés du noyau qu'on doit attribuer l'effet empêchant. Cette conception des corps empêchants est encore renforcée du fait qu'on peut en introduire artificiellement dans les bouillons de culture. Porges et Eisler (1906), par addition de sulfate d'ammoniaque renforcent la stabilité d'une émulsion bactérienne et empêchent non pas la fixation de l'agglutinine, mais la floconisation. Weil (1910) empêche l'agglutination d'une suspension bactérienne en l'additionnant d'un extrait microbien obtenu par chauffage prolongé d'une culture à 60° et centrifugation. Cet empêchement n'est pas dû à ce que l'agglutinine a été détournée des microbes par l'extrait, car si on ajoute cet extrait après le sérum, l'agglutination est encore empêchée.

L'inagglutinabilité obtenue en cultivant des microbes à 42° ou celle due à la nature du milieu nutritif peut s'expliquer de la même façon. Ici, non plus, il n'y a pas

eu destruction de la substance agglutinable puisque l'absorption de l'agglutinine continue, ainsi que l'a montré Eisenberg. Les corps empêchants qui se forment par la culture à 42° ne se produisent plus dans la culture à 36° ou lorsqu'on replace les microbes dans les conditions habituelles.

En ce qui concerne l'inagglutinabilité ou l'hypoagglutinabilité naturelle des microbes tels que les bacilles encapsulés, le bacille de Friedlander, par exemple, faut-il l'expliquer par l'absence de substances agglutinables, ou bien l'attribuer à la présence de corps empêchants développés normalement par la végétation ? Cette deuxième hypothèse nous semble préférable. Porges et Prantschoff (1906) ont ici encore réalisé la destruction des corps empêchants et ont fait apparaître ainsi l'agglutinabilité. Une émulsion de bacille de Friedlander dans du sérum physiologique est additionnée de son volume d'une solution d'acide quart-normal, chauffée 15 minutes à 80°, puis refroidie brusquement et neutralisée avec de la lessive de soude étendue. Cette suspension bactérienne ainsi traitée reste homogène mais s'agglutine très facilement par le sérum de Friedlander. Par le chauffage en milieu alcalin, il y a eu hydrolyse des protéines empêchant la floconnisation.

A quoi faut-il attribuer l'inagglutinabilité des cultures sur milieu contenant de l'antisérum ? A l'absence de substance agglutinable ou à la présence de corps empêchants ? La première hypothèse paraît peu probable. En effet les microbes inagglutinables provenant d'une culture sur antisérum ou de l'organisme d'un malade conservent leur propriété agglutinogène. Or, nous verrons au chapitre III que c'est la même substance qui est à la fois agglutinogène, fixatrice et agglutinable. Dans ces conditions,

il y a lieu de penser que les bacilles cultivés sur antisérum possèdent toujours leur substance agglutinable. De plus, malgré quelques données contradictoires, signalées paragr. 3, il ne paraît pas prouvé qu'ils ne fixent pas l'agglutinine.

Muller (1904) qui admet la diminution de la fixation de l'agglutinine par ces bactéries pense que la substance agglutinable est saturée par l'agglutinine du milieu de culture, de sorte que mise en présence d'un immunsérum, les bactéries sont incapables de fixer une nouvelle quantité d'agglutinine. Cette hypothèse doit être rejetée. Dans le cas d'une culture sur milieu solide, sur gélose, par exemple, contenant de l'agglutinine, les cellules microbiennes n'ont pas absorbé une quantité appréciable d'agglutinine sans quoi, leur émulsion dans l'eau physiologique, au lieu d'être inagglutinable serait, au contraire, agglutinée spontanément. Dans le cas d'une culture sur milieu liquide, l'agglutinine est absorbée par les microbes, mais ceux-ci sont agglutinés. Ensemencés sur un milieu dépourvu d'agglutinine, elles donnent le plus souvent une émulsion inagglutinable par leur antisérum. Mais ici encore il ne peut être question de récepteurs saturés puisque les cellules nouvellement formées n'ont trouvé aucune agglutinine dans le nouveau milieu. Ajoutons que la saturation des microbes par leur agglutinine est très difficile à réaliser, car la substance agglutinable peut absorber une quantité d'agglutinine beaucoup plus forte que celle nécessaire à son agglutination (voir chap. VII §1).

Selon Bail (1901), qui admet aussi la diminution ou l'absece totale de fixation d'agglutinine par les bactéries provenant d'une culture sur antisérum, la disparition de la substance agglutinable est due à la seule survivance des individus pauvres en substance agglutinable.

Selon cet auteur, ces microbes pauvres, qui sont les moins touchés par l'agglutinine, se reproduiraient à l'exclusion des autres. Mais l'hypothèse de cette prétendue sélection ne répond à aucun fait puisque les microbes agglutinés sont aussi aptes à se reproduire que les autres.

Il nous faut recourir une fois de plus à l'hypothèse des corps empêchants qui se formeraient dans les microbes cultivés pendant un certain temps sur antisérum et qui disparaîtraient par la culture sur les milieux usuels.

Enfin, dans l'inagglutinabilité par lavage prolongé, (Nicolle), il ne saurait être question de corps empêchants ; l'inagglutinabilité totale est due ici uniquement à la disparition de la substance agglutinable.

En résumé, bien qu'il soit probable que la quantité de substance agglutinable puisse varier dans une certaine mesure d'une espèce à l'autre et même au sein d'une même espèce, cette varitiation seule est incapable, sauf dans le cas de Nicolle, par lavage des vieilles cultures, d'expliquer l'inagglutinabilité. La cause de celle-ci nous paraît devoir être recherchée dans la présence de « corps empêchants » formés ou par la culture dans des conditions déterminées de température ou par d'autres traitements appropriés.

§ 6. — AGGLUTINABILITÉ ET VIRULENCE

Au début de l'étude de l'agglutination, on croyait qu'il existait un rapport entre l'agglutinabilité et la virulence, et que ces deux propriétés évoluaient parallèlement. Pfeiffer a expérimenté sur deux cultures de vibrions cholériques de même origine. L'une était devenue très

virulente par passage sur des animaux, l'autre demeurée sur des milieux artificiels était très peu virulente. Cette dernière culture s'agglutinait, par un immunsérum cholérique, dilué à 1/10.000, alors que la culture très virulente s'agglutinait encore par le même sérum dilué à 1/0.000. Mais comme l'ont montré WASSERMANN (1903), COLE (1904), PFEFFERSON, il existe des races de bacilles typhiques très virulentes et peu agglutinables et réciproquement. De même NICOLAS (1898) pour les bacilles de LŒFFLER, SHIBAYAMA (1905), pour le microbe de la peste, n'ont trouvé aucun rapport entre la virulence et l'agglutinabilité. D'ailleurs, on connaît des espèces toujours saprophytes qui sont bien agglutinables par leur antisérum, exemple : B. *mégatherium*, B. *mesentericus fuscus*, B. *misenterivus niger*, B. *Le Monnieri*, etc... (LASSEUR).

§ 7. — AGGLUTINABILITÉ ET MEMBRANE

On a voulu voir une relation entre l'épaisseur de la membrane d'un microbe et son agglutinabilité. Les bacilles encapsulés, nous le savons, possédant une enveloppe de mucus, sont moins agglutinables que les microbes qui en sont dépourvus. PORGES a établi que cette inagglutinabilité relative était due à des corps empêchants qui disparaissaient par l'hydrolyse. S'ensuit-il, comme certains auteurs le prétendent, que ces corps empêchants sont formés aux dépens de la membrane, et que plus celle-ci est épaisse, plus l'agglutinabilité est faible ? S'il en est ainsi, l'agglutinabilité doit reparaître après destruction de la capsule. C'est ce que l'expérience vérifie : Ainsi STREIT (1906) a observé ce phénomène pour des

bacilles de Friedlander cultivés à 8°. De même Shibayama (1905), a constaté que des bacilles de la peste cultivés à 37° présentent un aspect visqueux, une membrane épaisse et sont plus difficilement agglutinables.

Mais Defalle (Ann. Pasteur 1902) a démontré qu'il n'en est pas toujours ainsi. Cet auteur expérimentait sur le bacille de Friedlander et sur celui de Herla, bacille présentant sensiblement les caractères du bacille de Friedlander, mais portant une capsule très volumineuse. Il injectait ces deux bacilles à des animaux et obtenait à la vingt-deuxième injection un sérum de Herla agglutinant le microbe correspondant à 1/200, et inactif sur le bacille de Friedlander. Le sérum obtenu avec ce dernier bacille agglutinait à 1/1 la bactérie homologue et à 1/20 le bacille de Herla. Ainsi le bacille de Herla ayant une grosse capsule formait moins de corps empêchant que le bacille de Friedlander ayant une capsule beaucoup plus réduite. Il n'y a donc pas toujours concordance entre l'épaisseur de la membrane et l'inagglutinabilité.

§ 8. — AGGLUTINABILITÉ ET MOBILITÉ

On a cru autrefois que l'agglutinabilité était un caractère spécial des microbes mobiles et pourvus de fouets. Dineur (1898) concevait même l'agglutination comme un accolement des flagelles. Cette théorie est abandonnée depuis longtemps, puisqu'on connaît de nombreuses agglutinations pour des bacilles immobiles et non ciliés, pour des hématies, pour des cellules à membrane à peine différenciée. Toutefois il faut reconnaître que ce sont les bactéries les plus mobiles et les mieux pourvues

en fouets comme les bacilles typhiques qui sont le mieux agglutinées. Y a-t-il une relation de cause à effet ou une simple coïncidence ? Cette deuxième hypothèse est préférable puisqu'on a obtenu des sérums très agglutinants avec des microbes immobiles (1).

Certains faits ont porté à croire que les fouets jouaient un rôle important dans l'agglutinabilité : Malvoz ayant filtré et lavé à grande eau sur bougie Chamberland des bacilles d'Eberth qu'il voulait débarrasser des produits de culture dont ils étaient imprégnés, trouvait que les microbes obtenus en raclant la bougie ne s'agglutinaient plus aussi facilement par leur antisérum. Or, ces bacilles avaient perdu leurs fouets et leur mobilité. Defalle ayant repris ces expériences, confirma ces résultats. Il constata de plus qu'une culture de B. *mycoïdes* cultivée sur gélose peptonée et présentant de nombreux fouets, s'agglutinait mieux qu'une culture du même bacille sur gélose non peptonée et devenu peu cilié. Rossi, après agitation de bacilles typhiques dans l'eau salée et décantation, ce qui a pour effet de détacher la plupart des fouets, a constaté que le liquide contenant les cils est plus agglutiné que celui contenant les corps microbiens.

On peut expliquer ainsi ces expériences : Les bacilles typhiques agités dans de l'eau et dépouillés ainsi de leurs fouets ont perdu en même temps une partie de leur substance agglutinable, qu'on retrouve dans le liquide

---

(1) LESIEUR (1903) estime qu'« il n'y a pas de rapport absolu ou constant entre la mobilité et l'agglutination, soit primitive, naturelle, ou soit artificiellement développée. Les réensemencements successifs paraissent avoir une influence prépondérante sur l'agglutinabilité, même faits dans des conditions où ils ne développent pas la mobilité. » Journ. Phys. et Patho. génér. 1903, p. 539.

surnageant. Il y aurait simplement concommittance de faits.

Pour B. *mycoïdes* dont l'échantillon sélectionné, étudié par DEFALLE, avait été rendu moins cilié et moins agglutinable, on peut admettre que le milieu de culture sur gélose non peptonée, peu favorable au développement bactérien, a déterminé et la formation de corps empêchants et la diminution des cils. Mais là encore, il ne paraît y avoir qu'une coïncidence entre l'agglutinabilité et le manque de fouets.

§ 9. — AGGLUTINABILITÉS SPÉCIALES

a) Agglutination « à l'état naissant »

On désigne sous le nom d'agglutination à l'état naissant l'agglutination par ensemencement découverte par CHARRIN et ROGER (voir chap. 1, § 2).

Cette agglutinabilité « à l'état naissant » ne diffère pas essentiellement de l'autre. L'équilibre dans lequel se placent les jeunes cellules, vis-à-vis du liquide qui les contient, est rompu par l'agglutinine sitôt établi.

b) Agglutinabilité en filaments

METCHNIKOFF (1891), ISAEFF (1893), BEZANÇON et GRIFFON (1897), NEUFELD (1902), ayant ensemencé avec des pneumocoques un tube d'antisérum homologue, virent que les microbes se développaient dans la partie inférieure du liquide. En examinant l'agglutinat au microscope, ils constatèrent que ces pneumocoques, au lieu de se présenter sous leur aspect habituel de diplocoques, formaient

des chaînettes plus ou moins ramifiées. Cette disposition ne se produit pas régulièrement. On ne la rencontre qu'en utilisant des sérums très peu agglutinants ou très étendus.

Cette végétation spéciale de microbes agglutinés s'est rencontrée également pour d'autres espèces. Déjà CHARRIN et ROGER, en 1889, l'ont observé pour le bacille pyocyanique, PFAUNDLER (1898) pour B. *coli* et B. *proteus*, KRAUS (1899) pour le vibrion cholérique et le pneumobacille, MANDELBAUM (1910) pour le bacille d'EBERTH ensemencé en bouillon contenant du sérum typhique additionné de citrate de soude. Ce dernier avait cru pouvoir établir que cette forme spéciale d'agglutination ne se présentait qu'en mettant en présence un microbe isolé d'un malade déterminé avec le sérum de ce même malade. Cette prétendue spécificité de l'agglutination en filaments a été infirmée par KRAUS (1899) qui a obtenu le phénomène par l'action d'un sérum sur des bactéries homologues de différentes provenances.

LEDOUX-LEBARD en 1897, a décrit en détails l'agglutination en filaments qu'il a réalisée sur le bacille pseudo-tuberculeux des lapins par l'action d'un antisérum homologue. Le phénomène n'est observable qu'avec un sérum très dilué. On place une goutte d'un sérum dilué, ensemencé de bacilles pseudo-tuberculeux, dans la cavité d'une lame creuse recouverte ensuite d'une lamelle dont on lute les bords à la paraffine. La préparation est placée sur la platine du microscope ; la culture se développe ainsi sous l'œil de l'observateur. On peut voir les bacilles s'allonger démesurément et des lignes de segmentations apparaître ensuite ; ainsi se forment les chaînettes. Après dix à douze heures, les filaments se distinguent difficilement au centre de la préparation, car ils sont trop nom-

breux et présentent une masse informe. A la périphérie, au contraire, les chapelets de bacilles sont très visibles. Le moindre mouvement imprimé à la préparation, tasse les filaments en amas amorphes. C'est sans doute pour cette raison que LEDOUX-LEBARD n'a pu observer le phénomène sur une culture faite dans un tube et dont une goutte avait été prélevée pour l'examen microscopique, car le prélèvement de la goutte et son étalement sur la lamelle suffisent à faire disparaître les filaments.

Peut-être dans l'agglutination à l'état naissant, de CHARRIN et ROGER, le développement des bactéries a-t-il lieu également en filaments, mais ceux-ci ne peuvent plus être aperçus à l'observation microscopique, qui nécessite le transfert d'une goutte de bouillon et de son étalement sur la lamelle.

LEDOUX-LEBARD propose l'explication suivante pour la formation des filaments : « Dans l'évolution normale, des bacilles jeunes se détachent des cellules génératrices et se répandent dans le milieu de culture. L'action agglutinante doit s'opposer à cette mise en liberté des bacilles nouvellement formés et, si cette action est capable de s'exercer au début même du travail de segmentation, cette segmentation sera incomplète et les bacilles se développeront en filaments. »

LAVERAN et MESNIL (1901) ont constaté une disposition du même genre pour les trypanosomes des rats avec cette particularité que les filaments se disposent en rosaces.

Les différentes formes de l'agglutinabilité que nous venons de décrire sont dues à des dispositions végétatives qui s'ajoutent à l'action physique de la floconnisation et qui n'ont lieu naturellement que pour les microbes vivants. L'agglutination en filaments peut donc être considérée comme un aspect particulier du développement bactérien.

§ 10. — AGGLUTINATION SPONTANÉE

Si les microbes peuvent, dans certains cas, se montrer inagglutinables même après avoir fixé l'agglutinine, réciproquement, on trouve parfois qu'ils s'agglutinent sans avoir fixé d'agglutinine. Ceci n'a rien d'étonnant puisque nous avons dit que l'agglutinine spécifique n'était pas le seul corps capable de détruire l'équilibre des émulsions bactériennes. Des acides, certains sels, des subtances d'origine cellulaire telles que de vieilles cultures de charbon filtrées, des substances synthétiques, telles que la vésuvine, la safranine, etc., produisent ce que MALVOZ a appelé l'*agglutination chimique*. Mais on a trouvé aussi des cultures microbiennes incapables de donner normalement dans un liquide des émulsions stables. NICOLLE, le premier (1898), a signalé ce phénomène qu'il a appelé : l'agglutination spontanée. Cet auteur cultivait le bacille d'EBERTH en bouillon dans lequel il ajoutait des doses croissantes d'antisérum ; après un certain temps de séjour dans ce liquide, ce microbe, transplanté sur un milieu dépourvu d'antisérum, poussait en amas. Ce caractère se maintenait pendant plusieurs générations successives. NICOLLE a observé aussi fréquemment de très vieilles cultures de bacilles typhiques qui se montraient spontanément agglutinables. La cause de l'agglutination spontanée des bactéries paraît résider dans une modification de leur substance protoplasmique, modification dont la nature, il est à peine besoin de l'indiquer, nous est inconnue. PORGES et PRANTSCHOFF (1906) ont montré que l'agglutination spontanée du bacille d'EBERTH, du vibrion cholérique, du colibacille, des bacilles de FLEXNER, etc., disparaît par chauffage à 80°, mais qu'elle

réapparaît après chauffage à 100°. KIRSTEIN (1904) a constaté que les bacilles typhiques cultivés sur milieu dépourvu d'albumine étaient floconnisés en l'absence d'agglutinine, par la seule action du sel marin. LÉVI DELLA VIDA (1906), a observé également l'agglutination spontanée chez un bacille paratyphique B. de SCHOTTMULLER, chez un bacille typhique, un bacille dysentérique de KRUSE et un bacille coli. Ces différents microbes formaient dans l'eau distillée une suspension durable, mais si on ajoutait à celle-ci une solution de chlorure de sodium d'un certain titre, la floconnisation des bactéries avait lieu. Pour le bacille paratyphique B, LÉVI DELLA VIDA constatait que l'agglutination se produisait dans une solution de chlorure de sodium à 7 gr. 50 pour 1.000 ; elle n'apparaissait plus dans une solution inférieure à 1 gr. ou supérieure à 10 gr. par litre. La concentration de l'émulsion en chlorure de sodium nécessaire pour produire l'agglutination spontanée variait avec les espèces et les échantillons microbiens. La soude même, à très faible dose, empêchait l'agglutination spontanée comme elle empêche d'ailleurs l'agglutination spécifique. Ni l'âge de la culture, ni sa virulence n'a d'influence sur cette agglutination spontanée. Le bacille paratyphique B émulsionné dans une solution de chlorure de sodium à 2 p. 1000 est bien agglutiné par le sérum spécifique. Sur les microbes en suspension dans une solution de sel marin à 1/1.000, l'agglutination spécifique est très faible, elle n'a pas lieu dans une supension dans l'eau distillée.

NEISSER et FRIEDMANN (1904) ont comparé les bactéries spontanément agglutinables aux colloïdes précipitables par le sel marin et les bactéries normales à des colloïdes « protégés ». Ces auteurs ont montré que des supensions de colloïdes inorganiques précipitables par le chlorure de

sodium, des suspensions de mastic, par exemple, pouvaient être protégés contre la précipitation due aux électrolytes par l'addition de « colloïdes de premier ordre ». Ils dénomment ainsi les colloïdes amphotères comme l'albumine ou ceux non transportés par le courant électrique. Ces colloïdes formeraient autour des particules en suspension une gaine protectrice. Un sérum normal peut, comme le montrent ces auteurs, protéger une suspension de mastic contre l'action des électrolytes. Pour NEISSER et FRIEDMANN, les bactéries normalement agglutinables sont des colloïdes enveloppés naturellement d'une gaine protectrice. L'action de l'agglutinine consisterait à neutraliser l'influence de cette gaine ; les bactéries sont alors précipitées par le sel. Les bactéries spontanément agglutinables seraient celles dans lesquelles une influence quelconque, le mode de culture, par exemple, aurait fait disparaître la gaine protectrice. Toutefois cette analogie nest pas rigoureuse. Les bactéries normales et les « colloïdes protégés » ne se comportent pas de la même manière sous l'action du courant électrique, en effet, les « colloïdes protégés » ne sont pas transportés, tandis que les bactéries normales vont à l'anode. Ainsi, les bactéries spontanément agglutinables ne sont pas des microbes normaux qui auraient perdu leur gaine protectrice.

On peut se demander (avec LASSEUR) si l'agglutination spontanée ne serait pas en réalité une agglutination chimique due à la présence de substances sécrétées par les cultures elles-mêmes : acides organiques, etc. Il est frappant que les bactéries qui se montrent le plus souvent agglutinables spontanément, les streptocoques, par exemple, sont précisément celles qui sécrètent normalement de l'acide lactique. Nous ne connaissons pas de

travaux sur cette question, nous ne pouvons donc décider si l'agglutination spontanée est due à une modification interne des bactéries ou à la présence dans le milieu d'une substance secrétée par elles.

§ 11. — L'AGGLUTINABILITÉ ET LA PRATIQUE DE L'AGGLUTINATION

On conçoit facilement que l'agglutinabilité des bactéries ait une importance très grande pour la pratique de l'agglutination, soit dans l'identification des bactéries par les immunsérums expérimentaux, soit pour le sérodiagnostic des maladies. Si l'agglutinabilité est accidentellement absente, ou si la culture employée est agglutinable spontanément, on obtiendra des résultats erronés.

Erreurs provenant de l'inagglutinabilité

L'inagglutinabilité accidentelle des bactéries est généralement sans grande importance dans le sérodiagnostic. En effet, puisqu'on part d'une culture connue pour identifier un sérum, il n'y a qu'à la choisir bien agglutinable. Si l'échantillon de culture qu'on a à sa disposition est mal agglutinable et si l'on est certain cependant de sa nature, on peut essayer de lui rendre son agglutinabilité primitive par réensemencement sur les milieux usuels. Après quelques repiquages, cette propriété se manifestera à nouveau. On pourra utiliser aussi les autres moyens de faire reparaître l'agglutinabilité que nous avons signalés précédemment (voir chapitre II, § 4).

Dans l'identification des bactéries par les immunsérums expérimentaux, l'inagglutinabilité est d'une importance beaucoup plus grande. En effet, si une bactérie à identifier présente, par exemple, les caractères culturaux du bacille typhique, mais n'est pas, ou est mal agglutinée par l'immunsérum typhique, il y a lieu de se demander si l'on a réellement à faire à un bacille d'EBERTH dans le cas particulier inagglutinable et non à un germe voisin. Il faut alors, par les moyens indiqués au paragraphe 4, essayer de faire réapparaître l'agglutinabilité normale. On peut également tenter l'absorption de l'agglutinine : on met, pour cela, en contact la bactérie à étudier avec un immunsérum typhique. Si le germe est bien le bacille d'EBERTH, il absorbera l'agglutinine du sérum qui n'aura plus d'action sur une culture homologue bien agglutinable. Dans le cas contraire, le sérum conservera son pouvoir agglutinant.

Erreur provenant de l'agglutination spontanée

Une autre erreur peut être due au fait de l'agglutination spontanée. Il va de soi qu'une culture spontanément agglutinable ne peut pas être employée pour l'identification par l'agglutination ni pour le sérodiagnostic. Il faut lui rendre son agglutinabilité normale ou faire l'essai d'absorption de l'agglutinine. Le meilleur moyen de faire disparaître l'agglutination spontanée, c'est le réensemencement répété. PORGES a préconisé aussi le chauffage à 80°. Mais ce procédé applicable au vibrion cholérique ne saurait être utilisé pour la plupart des autres espèces. Le bacille typhique notamment perd à 80° non seulement son agglutinabilité spontanée, mais

aussi son agglutinabilité spécifique. Si l'on est en présence d'une culture qui, sans être véritablement agglutinée spontanément, présente cependant au microscope un petit nombre d'amas formés de quelques microbes seulement, elle peut être employée dans cet état pour l'agglutination macroscopique, mais pour l'examen microscopique, il est nécessaire d'observer comme moyen de contrôle une culture sans addition de sérum.

Certaines bactéries, telles que le bacille de Lœffler, le bacille de Koch, etc., donnent difficilement des émulsions homogènes. On peut dans ce cas employer quelques procédés spéciaux : l'agitation avec des perles de verre (Lubowsky, 1900), l'écrasement dans un mortier d'agate (Koch, 1901), etc. Arloing a pu habituer le bacille tuberculeux à produire dans le bouillon un trouble homogène par ensemencements répétés en bouillon glycériné et agitations journalières des cultures obtenues.

Une légère centrifugation de l'émulsion est recommandée pour éliminer les impuretés qui peuvent s'y trouver.

Densité de la suspension bactérienne

Pour que les résultats des agglutinations soient comparables, il y a lieu d'adopter une émulsion de même épaisseur, choisie comme type. Ch. Nicolle (1904), a proposé l'emploi d'une émulsion présentant le trouble que donne l'addition de cinq gouttes de solution au centième de bichromate de potasse à 100 cm. cubes d'une solution d'acétate neutre de plomb de même titre. Sacquépée (1901) a recom-

mandé d'utiliser des suspensions ayant le même aspect trouble u'une solution de chlorure de sodium à 0 gr. 10 par litre additionnée d'un excès d'azotate d'argent.

Depuis quelques années, on utilise des appareils analogues au spectrophotomètre. D'après LASSEUR, cet appareil, sans aucune modification, pourrait être directement utilisé et donnerait certainement les meilleurs résultats (application des lois de LAMBERT et de BEER).

Emploi des bactéries tuées

L'agglutination pouvant se réaliser également avec des bacilles morts, on emploie parfois pour l'agglutination, des microbes tués par des moyens chimiques ou physiques. Les agents chimiques employés habituellement sont le formol, le phénol, le toluol, etc.

D'après WIDAL et SICARD (1897), TRIBONDEAU (1908), PROSCHER (1902), DREYER (1909), les bacilles tués par le formol s'agglutinent sensiblement avec autant de facilité avec les bacilles vivants. Nous verrons (appendice) que le formol précipite les bactéries, mais au taux de 1/2 seulement, tandis que le formol employé ici comme antiseptique s'utilise à la dilution de 1 goutte pour 150 grammes de culture. Dans ces conditions, l'action précipitante du formol est absolument nulle.

WIDAL et SICARD (1897) ont également préconisé l'emploi de cultures tuées par le chauffage à 56°. D'après DE ROSSI (1906) ce moyen augmenterait même l'agglutinabilité des microbes. Comme autre procédé de stérilisation de culture servant à l'agglutination, LE MATTE et STASSANO (1914) ont employé les rayons ultra-violets. D'après ces auteurs, l'agglutination subit un léger retard,

mais moindre que celui que présentent les bacilles tués par la chaleur ou le formol. D'après Righi (1910), au contraire, les bacilles tués par les rayons ultra-violets seraient agglutinés moins vite que ceux tués par les autres moyens physiques.

Quoiqu'il en soit, la généralité des bactériologistes considèrent l'agglutination par les bacilles vivants comme étant le procédé de choix.

Procédés pour hâter l'agglutination

Certains microbes, comme le méningocoque, s'agglutinent lentement. Gaetgens (1906), Muller (1908), ont recommandé, pour hâter l'agglutination, la centrifugation du mélange culture - sérum pendant 10 minutes. Par une légère agitation du tube, les microbes agglutinés se répandent dans le liquide, mais en laissant voir des flocons ; les microbes non agglutinés redonnent un trouble homogène. Suivant Weil (1904), l'gglutination se fait mieux à la température de 50°-55°. Sadler (1905) a confirmé Weil : chez un malade atteint de fièvre typhoïde, l'agglutination avait lieu à la dilution de 1/100, après 5 minutes à 55°, alors que pendant le même temps, à 37°, on ne constatait pas trace d'agglutination à aucune dilution ; après 4 heures à 37°, l'agglutination n'avait lieu qu'à 1/10. Porges trouve le procédé de Weil avantageux pour l'agglutination du bacille de Friedlander, rendu agglutinable par le procédé Porges et Prantschoff (voir § 4) Kutscher (1906) et Fischer (1909) le recommandent également pour l'agglutination du méningocoque. Par contre Kafka (1906), Vénéma (1909), estiment que dans la plupart des cas, la température optima pour l'agglutination est 37°. Eberlé (1908) trouve que la température n'a aucune influence sur la marche de la réaction.

Asakawa (1904) a proposé, pour hâter l'agglutination, de soumettre le mélange émulsion-sérum à la congélation pendant un quart d'heure. L'agglutination s'apercevrait très rapidement après la liquéfaction du mélange. Mais Kirstein ne trouve pas ce procédé plus rapide que le procédé ordinaire.

Bouillons et suspensions

Ceritto, en 1904, a comparé les résultats fournis au point de vue de l'agglutination par des cultures en bouillon et par des émulsions de bactéries cultivés sur des milieux solides. Il trouve que cette dernière méthode donne de meilleurs résultats : l'agglutination apparaît plus rapidement.

Il arrive assez fréquemment qu'une vieille culture en certains bouillons présente à la surface un voile plus ou moins abondant. Or, ce voile est constitué par des amas microbiens qui peu à peu tombent dans le liquide, ce qui peut faire croire à un phénomène d'agglutination. Pour les bacilles typhiques et paratyphiques on évite la formation du voile, ainsi que l'indique Nicolle, en utilisant des bouillons simples ou des solutions de peptone à 2 0,0. Par l'emploi d'émulsions dans l'eau physiologique, de culture jeune sur gélose inclinée, on élimine également cette cause d'erreur, aussi la plupart des bactériologistes préfèrent-ils ce dernier procédé à celui des cultures en milieu liquide.

RÉSUMÉ DU CHAPITRE II

L'agglutinabilité est une propriété de la plupart des êtres monocellulaires. Elle varie avec les espèces et même parfois au sein d'une même espèce : tel microbe bien agglutinable normalement peut présenter des échantillons inagglutinables. On peut aussi, de différentes manières, provoquer artificiellement l'inagglutinabilité d'un microbe. Il est possible de rendre à une bactérie son agglutinabilité normale par le repiquage et divers autres procédés.

L'inagglutinabilité des microbes n'est pas due à la perte de leur pouvoir fixateur, car dans tous les cas où elles se montrent inagglutinables, les bactéries continuent à absorber de l'agglutinine (en quantité plus ou moins grande, il est vrai). L'inagglutinabilité semble être due surtout à la présence dans les cultures de substances qui empêchent l'agglomération des éléments microbiens.

Il n'existe pas de rapport constant entre la virulence, la membrane, les fouets des bactéries et leur agglutinabilité.

Dans les amas de microbes agglutinés, ceux-ci sont généralement assemblés dans un ordre quelconque, mais il arrive parfois qu'ils sont réunis en chaînettes. Cette agglutinabilité, dite *en filaments*, semble être due à une disposition végétative qui s'ajoute au phénomène purement physique de l'agglutination.

Certaines cultures bactériennes sont incapables de former des émulsions stables, soit dans l'eau distillée, soit dans le sérum artificiel. On désigne ce phénomène sous le nom d'*agglutination spontanée*.

CHAPITRE III

L'ANTIGÈNE

(Suite)

LA SUBSTANCE AGGLUTINABLE

§ 1. — PASSAGE DE LA SUBSTANCE AGGLUTINABLE DANS LES FILTRATS

C'est KRAUS (1897), qui le premier a montré la propriété des bouillons, débarrassés des bactéries par filtration, de former des amas par l'addition d'antisérum spécifique tout comme les cultures complètes. Cet auteur a vu également que l'eau de lavage des cultures sur gélose, les extraits microbiens par pression ou obtenus par des dissolvants, se floconnisent également par l'addition d'antisérum. Ch. NICOLLE en 1898 a repris ces expériences et a décrit avec détails la formation du précipité dans les filtrats de bacille coli et de bacille d'EBERTH. En ajoutant, dans un tube à essai stérile, à une dizaine de gouttes de bouillon typhique filtré une goutte d'antisérum typhique bien agglutinant et en portant le mélange à l'étuve

à 37°, NICOLLE constate, au bout d'un certain temps, la présence d'amas granuleux dans le liquide. Ceux-ci se réunissent peu à peu au fond du tube, le liquide surnageant devenant limpide. Par agitation ces amas se répartissent de nouveau dans tout le milieu, mais sans cesser d'être visibles ; lorsque l'agitation cesse, ils se déposent à nouveau. « Ils sont identiques comme aspect aux grains formés par les microbes agglutinés, même coloration grisâtre, même légèreté, même apparence floconneuse. » (Ch. NICOLLE, Ann. Inst. PASTEUR 1898, page 165). A l'examen microscopique, le phénomène présente aussi une grande analogie avec l'agglutination des microbes. Des amas semblables aux amas microbiens s'aperçoivent dans la préparation, « ils sont brillants, irréguliers, comme composés de particules séparées, vaguement arrondies ou ovalaires » (Ch. NICOLLE, op. cit. page 166).

Ch. NICOLLE, en lavant longtemps une vieille culture de bacilles typhiques, a vu diminuer progressivement son agglutinabilité. Il arrive même à rendre ces germes complètement inagglutinables par un lavage suffisamment prolongé. A l'examen microscopique, on constate que ces microbes sont morts pour la plupart, et que beaucoup sont déformés ou désagrégés. Par cette expérience, NICOLLE a montré que l'agglutination des bactéries est bien due non pas au microbe lui-même *en tant qu'élément organisé*, mais à un de ses produits de secrétion : la *substance agglutinable*. Celle-ci disparue, le microbe ne s'agglutine plus. Cette conclusion ne saurait être infirmée du fait que les cultures jeunes restent agglutinables après un lavage prolongé, même lorsque l'eau de lavage n'enlève plus du tout de substance agglutinable : c'est une propriété bien connue du protoplasma jeune de pouvoir retenir énergiquement certains produits.

Lévy et Bruns (1897) Widal et Sicard (1897), Rodet et Lagriffoul (1903), Ch. Nicolle (1898), Neisser et Shiga (1903) ont montré que les cultures filtrées et les extraits bactériens possédaient, comme les cultures complètes, le pouvoir agglutinogène. Un bouillon typhique filtré, injecté à un animal, produit un antisérum éberthien comme l'injection du même bouillon non filtré. Rossi (1904) a vu que le pouvoir agglutinogène d'une culture se perdait en partie par le lavage ; la force agglutinogène ainsi abandonnée par le corps microbien se retrouve en quantité sensiblement égale dans l'eau de lavage. Ainsi le pouvoir agglutinogène n'est pas dû aux microbes en tant que cellules, mais à une substance qu'ils secrètent et qui peut diffuser dans le bouillon de culture ou dans tout autre milieu aqueux.

La substance agglutinable des microbes et leur substance agglutinogène se retrouvent donc dans les filtrats ou les extraits de cultures. C'est en se servant de ces liquides qu'un certain nombre d'auteurs ont étudié ces substances. Quelques-uns ont cherché à les isoler et à les purifier afin de déterminer leur nature chimique et leurs propriétés.

§2. — PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE LA SUBSTANCE AGGLUTINABLE

Recherches de Ch. NICOLLE

Ch. Nicolle (1898) a étudié, un des premiers, la substance « agglutinée » et a signalé quelques-unes de ses propriétés. Il opérait sur le bacille coli, le bacille d'Eberth, et quelques autres microbes. Il filtrait un vieux bouillon

de culture laissé un mois à l'étuve et faisait ses essais sur ce filtrat sans chercher à isoler la substance agglutinable. Le filtrat était agglutinable et agglutinogène ; chauffé à 140°, il conservait en partie ses propriétés. Le froid, et même la congélation à — 6°, l'insolation prolongée, la dessication, l'âge de la culture, les antiseptiques n'influençaient pas les propriétés agglutinables et agglutinogènes de la culture filtrée.

La substance agglutinable était soluble dans les milieux neutres acides ou alcalins. NICOLLE a montré qu'elle était également soluble dans l'alcool et l'éther. Cet auteur passait un bouillon de culture de 12 heures sur papier filtre, après dessication du filtre, il en faisait macérer une partie dans l'alcool absolu, une autre dans l'éther. Ces liquides centrifugés et décantés étaient évaporés. Les résidus repris par de l'eau distillée donnaient un liquide agglutinable par l'antisérum.

Recherches de PICK

PICK reprit en 1902 l'étude de la substance agglutinable. Après l'avoir extraite d'une culture, il chercha à la purifier par plusieurs précipitations et par la dialyse. Il retira des cultures de bacille dEBERTH deux corps coagulables par l'antisérum typhique, et possédant tous deux le pouvoir de produire cet antisérum par inoculation à des animaux. Ces deux substances différaient entre elles par quelques réactions de précipitation. PICK appela *coaguline A* la substance qu'il retira d'une vieille culture en bouillon de bacilles tyhpiques et *coaguline K* celle d'une jeune culture sur gélose.

1° *Coaguline A.* — Pour obtenir la coaguline A, PICK ajoute, à une certaine quantité d'un vieux bouillon typhi-

que filtré, 6 fois son volume d'alcool à 95°. Le précipité est recueilli sur filtre, pressé et desséché à la température de la chambre, puis dissout dans l'eau. La coaguline ainsi obtenue est encore mêlée avec des corps albuminoïdes précipitables par l'alcool ; elle donne les réactions du biuret, de MILON, etc. Pour purifier cette substance, PICK sature la solution avec du sulfate d'ammoniaque. Le précipité obtenu est dissout dans l'eau, puis, précipité à nouveau par le sulfate d'ammoniaque, lavé à l'eau chargée de ce sel et enfin dissout dans l'eau distillée. Le corps ainsi obtenu peut être précipité de sa solution par l'alcool en donnant un produit visqueux. Il ne donne pas la réaction du biuret, mais celle de MILON se produit encore faiblement. PICK le considère comme un dérivé lointain des albuminoïdes ; pour lui ce n'est sûrement pas une albumose et vraisemblablement pas une peptone. Contrairement au produit obtenu par NICOLLE, celui-ci est insoluble dans l'alcool, mais il faut remarquer que NICOLLE opérait sur une jeune culture, alors que PICK expérimentait sur une vieille culture en bouillon.

2° *Coaguline K.* — La coaguline K est obtenue en délayant une jeune culture sur gélose dans une solution salée puis en filtrant. Le liquide filtré est précipité par un excès de sous-acétate de plomb. Le précipité est lavé à l'eau distillée jusqu'à ce que le filtrat ne donne plus la réaction du biuret. Ce précipité ainsi purifié est traité par une solution étendue de soude, puis filtré. Le filtrat opalescent est dialysé ; le dialysat contient la substance active. Cette coaguline K ne donne aucune réaction des albuminoïdes ; ce n'est ni une véritable albumine, ni une peptone, ni une nucléoprotéïde ; elle est soluble dans l'alcool, enfin, comme la coaguline A, elle donne avec un antisérum typhique le précipité caractéristique et, injectée à

un animal, elle détermine la production d'un antisérum typhique.

Les propriétés physiques, chimiques et biologiques de ces deux corps sont étroitement semblables. Ils résistent aux fortes températures, à l'alcool chaud, à l'éther, à la putréfaction, à la digestion par la pepsine et la trypsine, au moins *in vitro*. Les acides et les alcalis chauds peuvent à peine influencer leurs effets physiologiques Ils résistent à l'action de l'antiformine qui détruit la plupart des toxines bactériennes. D'après Rodet et Lagriffoul (1902), ces deux coagulines sont également agglutinogènes, ceci est bien en concordance avec ce que l'on sait des cultures sur bouillon et sur agar qui sont également agglutinogènes.

En résumé, les deux coagulines que Pick croit avoir réellement difftrenciées et isolées paraissent posséder les mêmes propriétés biologiques et la même résistance aux différents agents physiques et chimiques. Il se peut qu'elles soient une seule et même substance car la précipitation par l'alcool est insuffisante pour caractériser un corps au point de vue chimique.

Les résultats obtenus par Pick sur la résistance aux agents physiques et chimiques concordent bien avec ce que nous savons de l'agglutination des bactéries. Les cultures de bacilles typhiques, par exemple, (chap. II, paragr. 3) sont encore agglutinables après un chauffage à 100° et au-dessus. Si l'agglutinabilité disparaît complètement de 80° à 100°, c'est par une transformation opérée, non pas dans la substance agglutinable, mais dans d'autres corps issus de la protéïne bactérienne et qui aboutit à la formation de « corps empêchants » stabilisant le milieu. Ces « corps empêchants » de Porges sont hydrolisés à 100°, le milieu devient moins stable, le complexe substance agglutinable + agglutinine est alors précipité. Les résultats

obtenus par Pick rejoignent aussi les expériences de Eisenberg et Volk sur la fixations de l'agglutinine par les bacilles chauffés et sur la conservation du pouvoir antigène. Si la substance agglutinable n'est pas détruite par le chauffage, ainsi que le montre Pick, on s'explique pourquoi les bactéries chauffées fixent encore l'agglutinine et sont agglutinogènes quoiqu'ayant perdu leur agglutinabilité. Même concordance entre les expériences de Pick sur la résistance de la substance agglutinable aux acides et aux alcalis chauffés, et celles de Porges et Prantschoff (1906) sur les bacilles encapsulés. La destruction des « corps empêchants » en milieu alcalin à 80° révèle la présence de substance aglutinable qui, elle, résiste à ce traitement (chap. II, § 4).

La substance agglutinable purifiée par Pick se montre toujours agglutinogène et fixatrice. On peut donc admettre que c'est une seule et même substance qui possède toujours les trois propriétés d'être agglutinogène, de fixer l'agglutinine et d'être agglutinable. Cette dernière propriété ne se manifeste cependant que sous certaines conditions déterminées, à savoir la présence d'un électrolyte dans le milieu et l'absence de « corps empêchants ».

Recherches de BRIEGER et MAYER

Contrairement à Pick, Brieger et Schutz (1902), puis Briëger et Mayer (1903) n'ont pas cherché à purifier la substance agglutinable. Des cultures typhiques sur gélose sont broyées avec du sulfate d'ammoniaque cristallisé. Le magma formé est délayé dans l'eau distillée et laissé à l'étuve à 37° et enfin alcalinisé avec une solution étendue de bicarbonate d'ammoniaque dès que la réaction

devient acide. Après 8 semaines de séjour à l'étuve, les microbes étant morts, ils sont recueillis sur filtre et délayés dans un peu d'eau chargée de bicarbonate de soude. On agite le mélange pendant une ou deux heures et on le laisse à nouveau à l'étuve pendant trois jours. Après ce temps l'autolyse des microbes est complète. Le liquide jaune brun obtenu ne contient plus de bacilles, on n'y aperçoit plus au microscope que quelques granulations, restes des bacilles non encore complètement détruits. C'est le liquide ainsi obtenu qui fait l'objet des recherches de Brièger et Mayer. Il représente la presque totalité des bactéries qui s'y sont pour ainsi dire dissoutes, avec tous leurs éléments. Le liquide donne les réactions des albuminoïdes, il est agglutinogène et précipitable par un antisérum typhique, la substance agglutinable contenue dans ce liquide est insoluble dans l'alcool.

En modifiant un peu ce procédé, Brièger et Mayer ont obtenu un liquide agglutinogène mais qui ne serait pas précipité par son antisérum. Les auteurs expliquent ce fait en disant que la précipitation d'un filtrat, pour être visible, nécessite beaucoup plus d'anticorps en présence que l'agglutination, ce qu'admettaient déjà Widal et Sicard (1899) et Wassermann (1903). Quoiqu'il en soit, il se peut qu'ici il existe des corps empêchants qui stabilisent le filtrat, cette hypothèse est d'autant plus vraisemblable que le liquide de Brièger et Mayer renferme non seulement la substance agglutinable, mais la presque totalité du microbe aux dépens duquel se forment les corps empêchants.

Recherches de KRAUS et JOACHIM

Kraus et Joachim ont repris les expériences de Brièger et Mayer et ont confirmé leurs résultats. Ils ont trouvé

comme eux, que les filtrats de cultures peuvent être agglutinogènes et ne pas être précipités par leur antisérum. Mais il peut y avoir union de la substance agglutinable et de l'agglutinine sans précipitation à cause de l'action des corps empêchants ayant pu se former.

KRAUS *et* JOACHIM, contrairement à PICK et à NICOLLE, trouvent que la substance agglutinable des bacilles typhiques est tantôt soluble dans l'alcool et tantôt insoluble, qu'elle provienne d'une culture sur bouillon ou d'une culture sur gélose. De plus, ces auteurs prétendent que cette substance agglutinable peut se détruire parfois à 65°, ce qui est en opposition formelle avec les résultats de la plupart des expérimentateurs PORGES, PICK, NICOLLE, etc. Il paraît bien plus probable que dans les filtrats de KRAUS et JOACHIM le chauffage a produit des corps renforçant la stabilité de l'émulsion, de sorte que la précipitation n'a pas lieu malgré l'union de l'agglutinine et de la substance agglutinable.

Recherches de JOOS

Pour JOOS (1903), les bacilles typhiques possèdent 2 substances à la fois agglutinogènes et agglutinables. L'une qu'il appelle agglutinogène α est thermolabile à 62° et l'autre, l'agglutinogène β est thermostabile à cette température. Les bacilles vivants contiendraient les deux agglutinogènes α et β, les mêmes bacilles chauffés à 62° ne contiendraient naturellement plus que de l'agglutinogène β. L'agglutinogène α thermolabile déterminerait la production d'une agglutinine α qu'il absorberait spécifiquement ; contrairement à son antigène l'agglutinine α serait *thermostabile* à 62°. L'agglutinogène thermostabile β produirait l'agglutinine β qu'il fixerait spécifi-

quement ; l'agglutinine β serait *thermolabile*. L'agglutinogène α formerait la majeure partie de la culture typhique.

Voici sur quelles expériences Joos s'est fondé pour établir sa théorie.

Un sérum antityphique agglutinait des bacilles d'Eberth à la dilution de 1/20.000. Ce sérum n'agglutinait plus les bacilles chauffés à 62° qu'à 1/1.000. Dans ce dernier cas, dit Joos, il ne reste plus d'agglutinine dans le liquide surnageant, car si l'on ajoute une nouvelle quantité de bacilles typhiques chauffés, ceux-ci restent en suspension à l'état non-agglutiné. Si l'on ajoute à ce même liquide, qui n'agglutine plus les bacilles chauffés, les mêmes bacilles mais vivants, ceux-ci sont agglutinés. Voici comment Joos interprète l'expérience : les bacilles chauffés chargés seulement d'agglutinogène β ont absorbé seulement l'agglutinine β. Le sérum ne contient plus que de l'agglutinine α incapable de se fixer sur les bacilles chauffés mais encore capable d'agglutiner les bacilles vivants contenant les 2 agglutinogènes α et β.

Cette interprétation du phénomène ne nous paraît pas recevable, car les bacilles chauffés, ainsi que l'ont montré Eisenberg et Volk (1902) voir chap. VII § 1), absorbent autant d'agglutinine que les bacilles vivants avec cette seule différence qu'ils précipitent moins facilement.

En ajoutant au sérum dilué à 1/1.000 une nouvelle quantité de bacilles chauffés qui ne s'agglutinaient plus, Joos n'a pas montré qu'il n'existait plus d'agglutinine dans le liquide, mais simplement quil n'en restait plus assez pour agglutiner les bacilles chauffés ; la quantité d'agglutinine restante était encore suffisante pour floconniser les bacilles vivants beaucoup plus sensibles à l'action de l'agglutinine.

La 2e expérience citée par Joos ne nous paraît pas plus probante. On sait qu'un sérum antityphique chauffé à 62°-65°, perd une partie de son pouvoir agglutinant qui décroît peu à peu lorsqu'on élève la température. Eisenberg et Volk se basant sur des expériences bien conduites (ch. VI et VII) ont montré que cette diminution est due à la transformation d'une partie de l'agglutinine en *agglutinoïde* qui se fixe encore sur les microbes mais sans les agglutiner. Joos a constaté qu'une dilution de sérum antityphique chauffé et incapable d'agglutiner les bacilles typhiques également chauffés, pouvait encore agglutiner les bacilles vivants. Cet auteur interprète l'expérience de la manière suivante : Si, lors de l'addition à un sérum chauffé de bacilles également chauffés (agglutinogène β), l'agglutination ne se produit pas, c'est parce que leur agglutinine correspondante l'agglutinine β thermolabile a été détruite ou a subi une altération telle qu'elle ne peut plus agglutiner.

Quant à l'agglutination des bacilles vivants elle est due à l'agglutinine α thermostabile qui se fixe encore sur les bacilles vivants (agglutinogène α et β). Cette interprétation est tout à fait hypothétique. Nous pensons que si une culture de bacilles chauffés n'est plus agglutinée par une dilution de sérum agglutinant encore les bacilles vivants, ce n'est pas parce que ceux-ci contiennent 2 agglutinogènes, mais seulement parce qu'ils sont moins stables que ceux-là et qu'ils ont besoin d'absorber moins d'agglutinine pour être précipités.

Il n'y a pas lieu d'estimer que l'existence d'une substance agglutinable thermolabile à 62° dans les bacilles typhiques est établie par les expériences de Joos.

Citons pour mémoire les théories de Smith et Reagh et celles de Buxton et Torrey.

Recherches de SMITH et REAGH

Smith et Reagh (1904), ont voulu distinguer dans un même microbe deux substances agglutinables différentes : l'une contenue dans les corps bactériens, et l'autre localisée dans les fouets. Chacun de ces agglutinogènes déterminerait la production d'agglutinine leur correspondant spécifiquement : la somato-agglutinine et la cil-agglutinine.

Mais les expériences de ces auteurs sont très peu probantes. En effet, ils opéraient sur deux bacilles, l'un possédant des fouets, l'autre en étant dépourvu et qu'ils considéraient comme étant l'un et l'autre des échantillons de Hog-choléra.

L'espèce pourvue de fouets donnait un sérum qui, après avoir été en contact avec les bacilles immobiles, n'était plus agglutinant pour eux, mais agglutinait encore les bacilles mobiles. Smith et Reagh en concluaient que l'agglutinine se fixant uniquement sur les bacilles ciliés était celle qui correspondait à la substance agglutinogène des fouets. Cette conclusion n'est pas légitime car les deux échantillons sur lesquels ils expérimentaient, appartenaient, de l'aveu même de ces auteurs non à la même espèce, mais à deux espèces voisines, ce qui expliquerait leurs coagglutinations respectives (voir ch. V).

Recherches de BUXTON et TORREY

Buxton et Torrey (1905-1906), admettent aussi l'existence dans les bacilles typhiques de deux substances agglutinables : l'une pouvant être éliminée des corps bactériens par lavages à 72° et l'autre demeurant fixée à ces microbes. Ces deux agglutinogènes donneraient deux sérums spécifiques différents.

En définitive, de toutes les expériences précitées nous retiendrons :

1° Que la substance agglutinogène fixe toujours son agglutinine et qu'elle possède toujours, au moins en puissance, la propriété agglutinable. Nous emploierons donc indifféremment les termes de substance agglutinogène, substance agglutinable ou substance fixatrice.

2° Que la substance agglutinable des bacilles typhiques ou tout au moins la majeure partie de cette substance est résistante à une haute température.

§ 3. — VARIATIONS DE LA SUBSTANCE AGGLUTINABLE

La substance agglutinable des bacilles typhiques est résistante aux différents agents physiques et chimiques. Le chauffage à 65° et jusque vers 100° et 115°, les ferments, les acides et les alcalis même à chaud ne la modifient pas. Chez bon nombre de bactéries, la substance fixatrice et agglutinogène paraît également très résistante puisque les bacilles chauffés, injectés à des animaux, continuent à déterminer la production d'agglutinine et à la fixer (1). Il ne s'ensuit pas cependant que la substance agglutinable soit immuable et qu'on la rencontre toujours

(1) LASSEUR (inédit) trouve que *B. balticus, B. chlororaphis, B. Le Monnieri*, etc., chauffés à 80° ne fixent plus autant d'agglutinine que les bacilles non chauffés, mais ceci n'est pas une preuve absolue que la substance agglutinable a été détruite ou modifiée ; il a pu se former par le chauffage des corps nouveaux qui peuvent entraver, par leur seule présence, la fixation de l'agglutinine par les microbes.

pareille à elle-même dans les différents échantillons d'une même espèce bactérienne. Diverses influences peuvent la modifier dans une certaine mesure.

Dans certaines espèces bien homogènes, la substance agglutinable montre une grande fixité malgré le mode et les conditions physiologiques des cultures. D'une race à l'autre de vibrion cholérique ou de bacille d'Eberth, par exemple, on ne rencontre que des variations assez faibles dans la substance fixatrice. Dans les espèces polymorphes et peu homogènes comme le bacille coli, le streptocoque, la substance agglutinable varie, au contraire d'une race à l'autre de sorte que l'on obtient fréquemment des sérums agglutinant la race homologue et sans action sur une autre race de même espèce.

Le passage des microbes dans différents hôtes peut influencer fortement la nature de la substance agglutinable. Dans le groupe des poisons de viande on a signalé des variations très importantes dans la substance agglutinable. Sobernheim et Seligmann (1910), ont cultivé un microbe du groupe du bacille de Gartner, le bacille de Rumfleth, qui n'était pas agglutiné par le sérum de Gartner, mais seulement par son sérum homologue et qui, par le passage dans un animal, devenait agglutinable par le sérum de Gartner. Boddaert (1910) a vu un bacille paratyphique B qui était agglutiné par son sérum homologue à 1/5.000. Par passage dans un lapin, ce germe n'était plus agglutiné par ce même sérum qu'à 1/100, tandis qu'il se montrait très agglutinable par un sérum antityphique à 1/5.000. Dans ces différents cas, la substance agglutinogène a donc subi des modifications.

On pourrait encore citer d'autres exemples pris dans ce groupe, mais faisons ici toutes réserves quant à la valeur de ces expériences. Le groupe des poisons de viande

étant mal défini, ses races mal délimitées, ces exemples n'ont pas toute la valeur qu'ils pourraient avoir s'il s'agissait d'espèces bien homogènes. D'après SMITH et REAGH (1903), qui opéraient sur B. *typhosus*, B. *icteroïdes*, le bacille du Hogcholéra, le séjour de ces microbes dans différents animaux n'aurait que peu d'influence sur leur substance agglutinable.

Une autre variation importante dans la substance agglutinable est le phénomène appelé par KUHN et WOITHE (1909), « paragglutination ». Des cocci retirés d'un intestin dysentérique étaient agglutinés par du sérum de FLEXNER. On peut supposer, que des substances provenant des bacilles dysentériques ont été absorbées par les cocci de l'intestin qui deviennent par là sensibles à l'action du sérum de FLEXNER.

La nature du milieu de culture peut aussi influer sur la substance agglutinable. ALTMANN et RAUTH (1910) ont sélectionné une race de bacille coli entièrement différente des autres en cultivant ce microbe sur un milieu contenant du phénol. Ce bacille coli n'est agglutiné que par son sérum homologue. PICK et SCHWARTZ (1909) ont pu également changer dans une certaine mesure le pouvoir agglutinogène des bactéries par cultures sur milieu contenant du plomb et du mercure. Enfin, BORDET et SLEESWICK (1910), en cultivant le bacille de la coqueluche, ont obtenu deux races entièrement différentes au point de vue de l'agglutination suivant que le microbe vivait sur gélose ordinaire ou sur gélose contenant du sang.

Pour BORDET et SLEESWICK « les sérums ne portent point leur action sur les substances microbiennes fondamentales ,inhérentes à la vie, dont la présence est nécessairement liée à la nature et à la constitution même de l'espèce, mais sur des matières en quelque sorte accessoi-

res, d'apparition possible, mais facultative, dont l'élaboration ne fait nullement partie du faisceau des caractres héréditaires immuables qui donnent à l'être vivant sa physionomie propre et son autonomie ». [Sérodiagnostic et variabilité des microbes suivant le milieu de culture, Annales Institut Pasteur (1910).].

D'après Lasseur, au contraire, il n'y a pas lieu de considérer l'agglutination d'une espèce microbienne comme un caractère moins important que les autres. L'expérience a montré, en effet, que les différentes fonctions d'une culture bactérienne ne sont pas immuables, mais qu'elles varient toutes dans de certaines limites. Ainsi, le pouvoir fermentatif, la fonction chromogène, la sécrétion des diastases protéolytiques (liquéfaction de la gélatine), la production de l'indol, du phénol, l'aspect des colonies sur gélatine, etc., ne sont pas fixes et peuvent, soit spontanément, soit expérimentalement, offrir des variations plus ou moins étendues. Quant à la virulence, il faut admettre avec Vincent (1898), qu'elle est la plus instable de toutes les propriétés de la cellule microbienne. Dès lors, il n'est pas surprenant de constater des variations dans la manière dont se comporte une bactérie, vis-à-vis de son sérum homologue. D'après Lasseur, il est possible d'ailleurs de donner une explication simple de ces faits.

Les modifications dans l'agglutinabilité et le pouvoir agglutinogène, s'observent soit à la suite de cultures, dans des conditions spéciales, soit à la suite de passages dans des organismes vivants. Or, dans ces deux cas, il est possible d'admettre que ce milieu nouveau pour l'espèce, agit, sur une population hétérogène inoculée ou ensemencée, pour sélecter des éléments préadaptés et qui, entre autres propriétés, auront celle d'être agglu-

tinés ou non par un immunsérum. Le mécanisme de cette sélection peut être ramené au schéma général suivant: soit une population P qui est un mélange de deux biotypes A et B. Au biotype A appartient la plus grande partie de P. Considérons un milieu M dans lequel A ne puisse se développer que très difficilement, mais où, au contraire, B rencontre des conditions de vie facile. Que se passera-t-il quand on transportera P dans le milieu M ? Le biotype B, qui avait passé presque ou même inaperçu en P, va se développer énergiquement et devenir dominant en nombre, en sorte que la nouvelle population P', que l'on obtiendra ainsi, différera par son ensemble de P qui lui a donné naissance. Il y aura eu filtrage des formes préadaptées au sens de De Vries, de Davenport, de Morgan, de Cuénot. (Voir Lasseur, Thèse Doctorat es-Sciences, 1911).

Les variations constatées par Bordet et Sleeswick, sur le microbe de la coqueluche, peuvent facilement être interprétées comme un filtrage de formes préadaptées.

§ 4. — RÉPARTITION DE LA SUBSTANCE AGGLUTINABLE DANS LES BACTÉRIES

a) Dans la membrane

Les bactéries agglutinées n'étant pas visqueuses, comme le pensait Gruber, la membrane n'a pas dans l'agglutination l'importance que lui attribuaient les premiers observateurs du phénomène. Toutefois, ne joue-t-elle pas un rôle dans l'élaboration de la substance agglutinable ? Celle-ci est-elle exclusivement dans la membrane où elle

serait disposée en couches concentriques, ou bien est-elle répandue uniformément dans le corps microbien ? Après Nicolle, Defalle (1902) a pensé que la substance agglutinable était produite par la membrane. Il invoquait à l'appui de cette hypothèse, l'observation suivante qu'il a faite sur le bacille de Herla, variété sélectionnée du bacille de Friedlander, pourvue d'une énorme capsule visqueuse. Cette variété se montrait mieux agglutinable que le bacille de Friedlander, qui possède une membrane moins épaisse. En réalité, ce fait ne prouve nullement que la substance agglutinable est fabriquée par la membrane ,ni accumulée à la surface des microbes. Le bacille de Friedlander, ainsi que l'ont montré Streit (1906) et Porges (1905), est également agglutinogène et devient aussi agglutinable que le bacille de Herla, lorsqu'on détruit, par la culture à 8° ou par le chauffage en milieu acide les corps empêchants qu'il contient. (Voir chap. II, § 4) Si le bacille de Herla est plus agglutinable que le bacille de Friedlander normal, c'est parce qu'il fabrique moins de corps empêchants et non parce qu'il contient plus de substance agglutinable.

Les expériences de Neufeld (1909) tendent même à établir que la membrane bactérienne est dépourvue de substance agglutinable. Cet auteur, ayant traité le vibrion cholérique par une solution de potasse à 1/100 et ayant réussi de cette façon à séparer les membranes vides des corps bactériens, constate qu'elles ne sont ni agglutinables, ni agglutinogènes. La membrane paraît contenir si peu de substance agglutinable que lorsqu'elle est épaisse et durcie, comme dans les spores, elle s'oppose au contraire à sa diffusion. D'après les travaux de Defalle (1902), des levures ou des spores qui possèdent une membrane très résistante produisent, après une auto-

lyse de trois mois par le chloroforme, un sérum actif à 1 p. 80 pendant que le sérum de levure n'agit qu'à 1/1. Chauffées à 115°, ces cellules donnent un sérum plus actif qu'auparavant. La membrane s'opposait donc à la diffusion de la substance agglutinable. Détruite par autolyse ou altérée par chauffage à 115°, elle laisse passer la substance agglutinogène bien plus facilement, d'où s'ensuit la formation d'un sérum plus actif.

b) Dans les fouets

Les fouets des microbes contiennent-ils de la substance agglutinable et agglutinogène ? Nous savons que des espèces non ciliées s'agglutinent, mais il n'est pas interdit *a priori* de penser que dans les espèces pourvues de fouets, ceux-ci sont spécialisés dans la production de la substance agglutinable puisque ces espèces se montrent en général très agglutinables. G. DE ROSSI estime que les fouets sont porteurs d'une grande quantité de substance agglutinable. Il opère sur *B. subtilis* d'EHRENBERG, espèce bien agglutinable et bien ciliée. Il injecte à un cobaye une émulsion de bacilles complets ; à un deuxième, du liquide obtenu par agitation des microbes dans une solution physiologique de chlorure de sodium, puis filtré sur filtre BERKEFELD V : ce liquide contient la presque totalité des cils. Un troisième cobaye est préparé avec le sédiment obtenu après centrifugation et qui représente les microbes dépourvus de leurs cils. Un quatrième cobaye est inoculé d'eau de lavage de ces mêmes microbes. Les différents sérums obtenus montrent respectivement les titres agglutinants suivants : 1/1600, 1/750, 1/650, 1/50. Ainsi la somme des trois derniers taux représente sensiblement la valeur agglutinante du sérum provenant des bactéries complètes. Comme le liquide contenant les fouets est plus aggluti-

nogène que celui contenant les corps microbiens ou l'eau de lavage de ces microbes, DE ROSSI en conclut que les fouets représentent la partie du microbe où la substance agglutinable se forme ou bien s'accumule. Cette conclusion ne saurait être admise puisque la solution de chlorure de sodium dans laquelle s'est fait l'agitation du microbe a pu dissoudre une quantité importante de substance agglutinable. Dans le but de prouver que la substance agglutinable du liquide contenant les fouets était fixée uniquement sur ceux-ci, DE ROSSI passe ce liquide sur filtre de porcelaine qui retient les cils. Il remarque que le filtrat n'est plus agglutinable ni agglutinogène. Cette expérience, elle non plus, n'est pas probante. Les filtres de porcelaine peuvent retenir, outre les éléments figurés, des albumines en suspension colloïdale et par suite la substance agglutinable plus ou moins fixée aux albumines bactériennes. Les cils ne sont donc pas les organes spécialisés de la fonction agglutinative.

RÉSUMÉ DU CHAPITRE III

L'agglutination résulte de l'action de l'agglutinine sur une substance secrétée par les bactéries et qui peut diffuser hors des cellules. Cette *substance agglutinable* passe dans les filtrats de culture où elle donne un précipité floconneux par addition d'antisérum ; elle possède la propriété agglutinogène et celle de fixer l'agglutinine.

La substance agglutinable retirée des bacilles typhiques par PICK est un dérivé des albuminoïdes qui n'est ni une albumose ni une peptone. Elle résiste aux fortes températures, ses propriétés biologiques ne sont pas altérées par le chauffage à 115°, les alcalis à chaud l'influencent peu, elle résiste à l'action des ferments et se montre tantôt soluble, tantôt insoluble dans l'alcool. Ce caractère différentiel ne nous paraît pas suffisant pour conclure à l'existence de deux entités chimiques différentes.

La substance agglutinable varie peu d'une culture à une autre dans les espèces bien fixées. Toutefois, on a pu la transformer d'une façon notable par certains procédés culturaux (exemple : le microbe de la coqueluche cultivé sur milieu sanguin).

La substance agglutinable paraît être uniformément répartie dans le protoplasma bactérien, mais la membrane, d'après NEUFELD, n'en contiendrait pas. Les fouets ne sont pas, comme le pensaient certains auteurs, des organes spécialisés dans la production de la substance agglutinable.

CHAPITRE IV

L'ANTICORPS

FORMATION DE L'AGGLUTININE DANS L'ORGANISME

---

§ 1. — INFLUENCE DE LA NATURE DE L'ANTIGÈNE SUR LA PRODUCTION D'AGGLUTININE.

Pour qu'il y ait production d'agglutinine dans un organisme humain ou animal, il faut que l'antigène pénètre dans la circulation.

Widal et Sicard (1897) ont constaté que l'antigène peut être une culture vivante ou tuée. Les bactéries, les levures, les hématies et, en général, les êtres monocellulaires peuvent déterminer la production d'agglutinine.

On peut se servir, pour obtenir de l'agglutinine de culture sur bouillon ou sur milieu solide, de bouillons filtrés, de cultures complètes ou seulement de bacilles lavés, même de bacilles désséchés. Chantemesse (1897), Rodet et Lagriffoul (1902), Widal et Sicard (1897) Winterberg (1899), Pick (1902), Ch. Nicolle (1898) ont montré également qu'on pouvait employer les extraits bactériens dans l'alcool ou l'eau salée, ou obtenus par pression, les spores et les bacilles dissous (dans l'antiformine, notamment). La culture faite dans certaines conditions, sur milieu phénolé, par exemple, en altérant l'antigène, peut déterminer la production d'une agglutinine particulière sans action sur la bactérie normale et créer à ce point de vue comme une espèce nouvelle (Altmann et Rauth, 1910), etc. (voir ch. III, § 3).

On peut dire que toutes les bactéries pathogènes ou non produisent de l'agglutinine. Durham (1897) et Gruber (1896) ont trouvé une agglutinine pour *B. Megatherium*, Sternberg (1898) en a trouvé par le bacille du lait acide de Boass, Vincent (1898) pour *B. mesentericus fuscus*, Lasseur (inédit) *pour B. mesentericus niger*, *B. Le Monnieri*, *B. de Laitre* (étudié par Nepveu), *B. cyaneofluorescens*, etc. (1).

La virulence d'une culture ne paraît pas être toujours en rapport avec la production d'agglutinine. Telle culture non virulente peut être plus agglutinogène qu'une autre virulente et réciproquement. Toutefois, Vincent (1898) obtient plus facilement de l'agglutinine avec des cultures virulentes qu'avec des cultures de même espèce ayant

(1) Il est vrai qu'il est difficile d'établir une démarcation nette entre les germes pathogènes et saprophytes.

perdu leur virulence par un long séjour sur des milieux artificiels.

Une agglutinine disparue dans le sang peut ne plus réapparaître par une nouvelle injection du même antigène, la première action de l'antigène ayant sans doute eu pour effet d'altérer les cellules productrices d'anticorps (Brieger et Mayer, 1903).

Widal et Sicard (1898) ont montré les premiers qu'on pouvait obtenir plusieurs agglutinines différentes chez un même animal par injections de plusieurs microbes différents. On peut ou injecter un mélange de plusieurs culture ou faire des inoculations successives de différents microbes. Ainsi l'existence d'une agglutinine dans le sang ne paraît pas nuire à la production d'une autre agglutinine.

Castellani (1902), Ch. Nicolle (1904), Buxton et Vaughan (1904) ont fait des observations analogues. Lasseur (inédit) a obtenu un sérum agglutinant à la fois *B. balticus*, *B. Le Monnieri et B. chlororaphis* par immunisation d'un lapin avec ces trois germes.

De plus, la plupart des auteurs, Castellani (1902), Pulvirenti (1904), D'Amato (1910), admettent que lorsque plusieurs agglutinines se développent simultanément dans l'organisme, chacune d'elle se comporte comme si elle était seule et n'influence pas le développement des autres. Kentzler et Benczur (1908) ont montré notamment qu'une infection de streptococcique ou staphylococcique survenant au cours d'une fièvre typhoïde ne modifie pas la courbe de l'agglutinine typhique. Par contre, Bieling (1919), a apporté, tout récemment, des données toutes différentes. Suivant cet auteur, une infection survenant quelque temps après une autre peut faire réapparaître

l'agglutinine correspondant au premier germe infectant (1).

§ 2. — INFLUENCE DE LA QUANTITÉ D'ANTIGÈNE

La quantité d'antigène nécessaire à la production d'agglutinine est extrêmement faible. WIDAL et SICARD (1897), DEUTSCH (1899) démontrent qu'une seule injection intrapéritonéale de bacilles typhiques provoque l'apparition du pouvoir agglutinant dans le sérum. Suivant STAÜBLI (1903), une dose de 1/60 de culture sur gélose suffit à déterminer nettement la production d'agglutinine. De même FRIEDBERGER et MORESCHI (1905) trouvent que 1/500 d'anse de bacilles tués est suffisant pour produire cet effet.

WIDAL et SICARD (1897) trouvent qu'il faut inoculer deux fois plus de cultures tuées que de cultures vivantes pour obtenir le même résultat. D'après KASTÉN (1903), au contraire, les bacilles tués auraient un pouvoir agglu-

---

(1) BIELING injectait à un lapin du bacille de SHIGA, par exemple. Lorsque l'agglutinine était en voie de disparition, il faisait une nouvelle injection, mais cette fois de bacille typhique. BIELING constatait alors que l'agglutinine dysentérique reapparaissait d'emblée tandis que l'agglutinine typhique mettait 2 ou 3 jours à se manifester.

De plus, l'auteur constatait une hypersensibilité des cellules productrices d'agglutinine chez un individu déjà infecté. Ainsi, lorsqu'on injecte à un lapin qui a été inoculé préalablement de bacille dysentérique, une quantité de bacilles d'EBERTH si faible qu'un lapin neuf ne réagirait pas, on constate que le lapin en expérience produit de l'agglutinine typhique.

tinogène plus grand que les bacilles vivants. LASSEUR (inédit), en injectant des émulsions de *B. chlororaphis* chauffées à 80°, obtient un sérum aussi agglutinant (1/4.000) que celui obtenu par injection de bacilles vivants. PERRONE (1907) constate que les bacilles congelés conservent intacte leur propriété aglutinogène. BUXTON et VAUGHAN, ainsi que COLE (1904), ont observé que la quantité de bacilles nécessaire pour obtenir l'effet agglutinogène était la même pour une espèce donnée, quelle que soit l'agglutinabilité de l'échantillon microbien inoculé. La production d'agglutinine n'est pas rigoureusement proportionnelle à la quantité d'antigène injectée. Elle croît avec la quantité d'antigène jusqu'à une certaine limite ; une dose supérieure, au contraire, peut entraver l'action des cellules productrices d'agglutinine. Un certain nombre d'injections renouvelées à intervalles de plusieurs jours augmentent la formation d'agglutinine sous la réserve exprimée plus haut.

§ 3. — INFLUENCE DU MODE DE PÉNÉTRATION DE L'ANTIGÈNE DANS L'ORGANISME.

Quelle que soit la voie de pénétration de l'antigène dans l'organisme, il s'ensuit toujours la production d'agglutinine.

a) **L'injection intraveineuse** est généralement le procédé de choix, c'est celui par lequel la production d'agglutinine est la plus sûre, la plus abondante et la plus rapide.

b) **L'injection intrapéritonéale** à dose croissante tous les trois jours donne aussi de bons résultats. (FORNET et

Muller, Tsuzuki 1910). Des bacilles contenus dans un sac de collodion placé dans la cavité péritonéale d'un animal déterminent aussi la production d'agglutinine, la substance agglutinogène traversant en partie mais lentement les membranes de collodion (Marbé, 1909).

c) **Par injection sous-cutanée** on obtient moins d'agglutinine que dans les cas précédents. D'après Pfeiffer, il y aurait probablement destruction d'une partie de la substance agglutinogène au point d'inoculation. Kasten (1903) et Hoffmann (1903) ont pu obtenir de l'agglutinine chez les lapins ou des cobayes par simples frictions de cultures vivantes ou mortes sur la peau rasée de ces animaux.

d) **Par inhalations de cultures desséchées** on a pu provoquer la formation d'agglutinine chez les animaux de laboratoire. Dans le même but, Rehns (1901) leur injectait avec succès des bouillons de culture dans la cavité pleurale.

e) **Par ingestion de bacilles** par des cobayes, Nicolle et Conseil (1909) ont constaté que la quantité d'agglutinine produite était moindre encore que par injection sous-cutanée. La substance agglutinogène, bien que très résistante *in vitro* aux ferments digestifs (voir ch. III) paraît être plus sensible à ces agents à l'intérieur de l'organisme.

Avec des bacilles vivants, mélangés à la nourriture de cobayes ou d'autres animaux, on peut obtenir de l'agglutinine avec une facilité relative. Dans ce cas, tantôt les animaux contractent une maladie typique [faits observés par Remlinger (1897), Chantemesse (1897)], tantôt, au contraire, d'après Widal, Nicolle et Conseil, ils ne manifestent aucune altération appréciable. Mais la

présence de bacilles dans l'intestin n'entraîne pas toujours la formation d'agglutinine dans le sang. Ceci est en concordance avec ce que nous savons des porteurs de germes qui, tantôt ont de l'agglutinine dans leur sang et tantôt n'en ont pas (1).

En faisant ingérer à des animaux des bacilles tués ou des cultures filtrées, ou des extraits bactériens, SICILIANO (1909), LŒFFLER (1906), n'ont pu rendre agglutinant le

---

(1) « On distingue parmi les porteurs de germes d'une part, les porteurs chroniques qui ont été atteints d'une infection éberthienne connue ou ignorée (en raison de sa bénignité ou de son caractère anormal), d'autre part, les porteurs sains considérés comme vierges de toute infection éberthienne antérieure. D'après certains auteurs comme SCHELLER, KLINGER, CONRADI, etc., « le bacille typhique a pu traverser en quelque sorte l'organisme sans y développer aucune altération appréciable ; il a pu vivre en véritable saprophyte dans l'intestin, sans provoquer de réaction perceptible ». De tels sujets seraient contagionnés sans être infectés. Dans l'épidémie de K..., par exemple, une femme, porteuse chronique, avait contaminé le lait d'une métairie, bu par une quarantaine de personnes : parmi ces dernières, toutes en bonne santé, dix-sept présentaient des bacilles dans les excrêta. La femme ayant été éloignée de la métairie, les bacilles disparurent chez tous les porteurs précédents. (SCHELLER.) Ici on ne voit aucune raison de ne pas accepter une contagion sans infection ». (Sacquépée, les porteurs de germes. Bulletin Inst. *Pasteur*. Janvier 1910, p. 3).

La plupart des auteurs admettent que chez les porteurs sains le sérum sanguin n'est pas agglutinant. Chez les porteurs chroniques, au contraire, on trouve habituellement de l'agglutinine, mais celle-ci « peut manquer pour diverses raisons parce que l'infection est trop minime, parce que la muqueuse intestinale, vaccinée à la suite d'une atteinte antérieure, oppose une barrière infranchissable aux germes et à leurs toxines. (Immunité locale de WASSERMANN et CITRON) ou pour toute autre raison », SACQUÉPÉE op. cit., p. 9.)

sang de ces animaux. La substance agglutinogène est vraisemblablement détruite par l'action des sucs digestifs. Toutefois si cette substance agglutinogène est en quantité considérable, il peut y avoir production d'agglutinine. Il est probable que lorsque la muqueuse stomacale est ulcérée, l'absorption de substance agglutinogène est plus facile et la formation d'agglutinine doit être plus abondante, mais nous ne connaissons aucune confirmation expérimentale de cette hypothèse (1).

§ 4. — INFLUENCE DE LA NATURE DE L'ANIMAL ET DES CONDITIONS PHYSIOLOGIQUES DANS LESQUELLES IL SE TROUVE.

Tous les animaux supérieurs peuvent produire de l'agglutinine, en quantité variable suivant les espèces et suivant les individus. Ces différences entre les individus et entre les espèces existent également pour le nombre et la quantité des coagglutinines (voir Chap. V, « coagglutinines »). Widal et Sicard (1897), ainsi que Noguchi (1903) ont reconnu la production d'agglutinine chez les animaux à sang froid : grenouilles, tortues, mais elle a lieu lentement, sans doute en raison de leurs échanges moins rapides (2). D'après ces mêmes observateurs, la

(1) On sait que PASTEUR infectait des animaux en leur faisant ingérer des bacilles mélangés à du verre pilé, ce qui corrodait la muqueuse intestinale.

(2) Nous n'avons trouvé aucune expérience sur la possibilité de produire de l'agglutinine chez les animaux placés plus bas dans la série.

production d'agglutinine chez les grenouilles est favorisée et accélérée, si on les maintient dans un local à 33°, température supérieure à leur milieu habituel. Les mêmes observations valent pour les animaux à sang chaud. En déterminant chez le lapin, par exemple, une élévation de la température du corps par injection d'albumose, la quantité d'agglutinine augmente. Toutefois, nous relevons des données contradictoires ; selon FUKUHARA (1909) un refroidissement de quelques degrés dans la température du corps favoriserait la production d'agglutinine ; d'après GRAZIANI (1907) des lapins séjournant dans un local à la température de 2° et 3° produiraient plus d'agglutinine que ceux maintenus à 18°.

D'après TH. MULLER (1904), certains accidents physiologiques : la faim, la nature de l'alimentation, etc., peuvent avoir des effets variables sur la production d'agglutinine : augmentation ou diminution. Telle cause favorisante chez un animal pour un bacille déterminé peut être, chez ce même animal, empêchante pour un autre bacille. De même pour un bacille donné, il y aura augmentation chez un animal et diminution chez un autre.

D'après LEVADITI (1899) et TRÉVISAN (1908) des injections de certains sels : phosphate acide de soude, etc., favorisent la production d'agglutinine. MELNIKOWA et VERSILOVA (1909) obtiennent le même résultat par l'injection de nucléine ; par contre, l'hydroxylamine diminue d'une façon presque irréparable la production de l'agglutinine. COLLINS (1909), en injectant à des animaux certains ferments : levure de bière, diastase, pancréatine, certains sels de soufre et de phosphore, obtient une diminution dans la sécrétion de l'agglutinine. Ces différentes actions (diminution ou augmentation de la production d'agglutinine) sont dues vraisemblablement soit à une paralysie, soit à une excitation des cellules productrices d'agglutinine.

§ 5. — TENEUR DES SÉRUMS EN AGGLUTININE

Le contenu des sérums en agglutinine varie avec les espèces microbiennes. On ne rencontre jamais, par exemple, de sérum contre le bacille de FRIEDLANDER agglutinant à la dilution 1/200, tandis que les sérums antityphiques agglutinant à 1/100.000 ne sont pas rares.

Les sérums de malades ou de convalescents sont habituellement beaucoup moins riches que ceux obtenus dans la vaccination par injections répétées de petites doses d'antigène. Un sérum de typhique agglutine rarement au-dessus de la dilution de 1/5.000 tandis que l'Institut PASTEUR de Paris prépare des sérums agglutinant le bacille d'EBERTH à 1/100.000. VAN DE VELDE (1897), en immunisant pendant deux ans un cheval a obtenu un sérum du titre de 1/1.000.000 : un milligramme de sérum agglutine un litre d'émulsion de bacilles au bout de 30 à 40 minutes. DURHAM a pu obtenir un sérum agglutinant le bacille coli à la dilution de 1/2.000.000.

§ 6. — DATE D'APPARITION ET COURBE DE L'AGGLUTININE

L'apparition de l'agglutinine dans le sang a lieu généralement entre le troisième et le neuvième jours qui suivent la première injection. Dans certains cas on a pu constater l'apparition de l'agglutinine aux deuxième et troisième jours, jamais plus tôt ; parfois elle n'apparaît

que vers le quinzième jour sans qu'on puisse saisir la cause de ce retard. Chez les animaux à sang froid, elle peut encore tarder davantage, sans doute en raison de la lenteur des échanges chez ces animaux. Lorsqu'on injecte des microbes tués par la chaleur, l'agglutinine est généralement plus longue à apparaître qu'avec les cultures vivantes. WIDAL et SICARD (1897) ont constaté que dans le cas d'une injection de culture filtrée, la production de l'agglutinine était très retardée.

En ce qui concerne l'agglutinine passive injectée dans un organisme animal, elle manifeste son action presque aussitôt dans le sang circulant. WIDAL et SICARD ayant injecté du sérum agglutinant d'âne à un cobaye, ont constaté, après une demi-heure, l'apparition du pouvoir agglutinant qui atteignait son maximum dix heures après (1).

« Chez le lapin inoculé avec une culture typhique, des mensurations journalières montrent que la courbe de l'agglutinine présente les phases suivantes : période d'incubation de trois jours, ascension rapide avec maximum au neuvième et au treizième jour, descente d'abord ra-

---

(1) L'agglutinine passive ainsi injectée à un animal paraît se comporter comme si elle était simplement diluée dans un liquide quelconque en quantité égale à celle du sérum de l'animal injecté. « M. BORDET injectant à un cobaye 1 cc. de sérum cholérique préventif bien actif, avait déjà trouvé que le sérum de cet animal 24 heures après l'inoculation agglutinait déjà le bacille cholérique. Le sérum de l'animal à cette date était toutefois moins actif que le cholérasérum injecté la veille M. BORDET, évaluant à 30 cc. la quantité de sang de cobaye en expérience, conclut que les choses se sont passées comme si l'on avait simplement dilué 1 cc. de sérum dans 30 cc. d'un liquide ». (WIDAL et SICARD. Etude sur le sérodiagnostic. Ann. *Pasteur* 1897, p. 392).

pide, puis de plus en plus ralentie. L'inoculation d'une nouvelle culture des mêmes microbes pratiquée à la fin de la période de descente provoque le développement d'une seconde courbe analogue à la première, mais plus ample ; dans ce cas, il n'y a pas d'incubation. Si la seconde inoculation est faite au début de la période d'ascension, il y a arrêt de trois jours dans celle-ci, puis courbe normale avec un maximum plus élevé. Au début de la période de descente, la seconde inoculation amène un arrêt en plateau dans la chute, puis une nouvelle courbe plus ample se dessine. Une saignée pratiquée pendant la descente relève momentanément le taux de l'agglutinine. L'inoculation de sérum agglutinant au lapin neuf est suivie du développement d'une courbe différente (courbe de l'agglutinine passive) caractérisée par une baisse régulière. » (NICOLLE, suite d'expériences 1904). JEORGENSEN (1904) a publié des résultats qui confirment en grande partie ceux de NICOLLE.

La date d'apparition du pouvoir agglutinant est plus variable au cours des maladies spontanées que dans les infections expérimentales. Dans les maladies à courte incubation, elle n'apparaît qu'à la convalescence ; le sujet peut succomber sans que son sang ait été agglutinant, l'organisme trop atteint n'a pas eu le temps de produire de l'agglutinine. Dans les infections à incubation longue, elle se manifeste au cours de l'infection ; dans la fièvre typhoïde, on la trouve habituellement au cours du premier septenaire. CHANTEMESSE (1897), ACHARD et BENSAUDE (1896) l'ont rencontrée aux quatrième et troisième jours de la maladie. FRANKEL (1897) l'a constatée chez un malade atteint de fièvre depuis deux jours seulement. Son apparition peut être brusque ou progressive et assez indépendante de la marche de la maladie (voir Agglutination et immunité, Ch. VIII).

§ 7. -- DURÉE DE LA PRÉSENCE D'AGGLUTININE DANS L'ORGANISME

Les agglutinines peuvent persister un temps variable dans l'organisme. WIDAL et SICARD (1897) constatèrent qu'un lapin ayant reçu une seule injection de bacilles typhiques possédait encore la réaction agglutinante au bout de six mois, mais l'avait complètement perdue après neuf mois. Après vaccination par injections répétées de petites doses de cultures tuées, l'agglutinine persiste plus longtemps encore. Ainsi WRIGHT (1897) a trouvé, deux ans après la dernière injection, une agglutination de 1/2.000. Les observations cliniques parlent dans le même sens : l'agglutinine typhique peut disparaître pendant la convalescence. ACHARD et BENSAUDE (1896), dans un cas, n'ont plus trouvé la réaction agglutinante dix jours après l'apyrexie ; THIERCELIN et LENOBLE (1897), vingt jours après la fin d'une rechute. Le plus souvent, l'agglutinine persiste plusieurs mois après la fin de la maladie. D'après TOBIESEN (1901), dans la majorité des cas, on retrouve l'agglutinine assez rarement après une année. Toutefois, c'est un fait bien connu qu'elle peut persister pendant des années. WIDAL et SICARD (1897), UHLENHUTH (1897) IVERSEN (1904) l'ont rencontrée chez des sujets guéris depuis sept et huit ans. Le sang de l'un d'eux agglutinait encore à 1/800. LELIVA et SCHUSTER (1909) ont trouvé après neuf ans un titre de 1/8000.

Mais dans la plupart des cas où les agglutinines subsistent longtemps dans l'organisme après la guérison, on admet qu'elles sont dues à la présence de germes continuant à vivre dans l'organisme. Les expériences

sont assez concordantes à ce sujet. D'après KLINGER (1902) et SCHNEIDER (1907) 2 à 3 p. 100 des anciens typhiques sont porteurs de germes. D'autre part, une agglutinine disparue peut réapparaître dans un organisme : d'après DIEUDONNÉ une injection d'hétol peut réveiller une disposition latente des cellules productrices d'agglutinine. De plus, une action agglutinante pour un microbe donné peut réapparaître à la suite d'une infection due à un autre microbe ; il s'agit ici soit d'une coagglutination (voir chap. V.) soit même, d'après BIELING (1919) d'une agglutination véritable (voir ce chapitre § 1).

L'agglutinine passive, résultant de l'injection d'un sérum agglutinant, ne persiste que très peu de temps dans l'organisme.

WIDAL et SICARD (1897) ayant injecté du sérum agglutinant à un cobaye constatent que le sang de cet animal perd rapidement de son taux agglutinant : dix jours après l'injection, il n'agglutine plus.

§ 8. -- RÉPARTITION DE L'AGGLUTININE DANS L'ORGANISME

C'est dans le sang que l'on trouve l'agglutinine en plus grande quantité. Elle est fixée sur la globuline et le fibrinogène. [WIDAL et SICARD (1897).] La sérine n'en contient pas. Cependant l'agglutinine existe encore dans d'autres liquides de l'organisme : la lymphe, les liquides des séreuses, les extraits d'organes vides de sang, les liquides d'oedème, le pus. Tous ces liquides contiennent moins d'agglutinine que le sang car les membranes de l'organisme laissent diffuser avec plus ou moins de facilité la ma-

tière agglutinante dans les diverses humeurs. Cependant COURMONT (1898) aurait trouvé plus d'agglutinine dans l'exsudat pleurétique d'un tuberculeux que dans son sang. Cette observation n'a pas été faite par d'autres auteurs. DEUTSCH (1899) a constaté également que l'extrait de poumon pouvait agglutiner plus que le sang, mais il ne s'agit là que d'une agglutination accidentelle et non spécifique (voir chap. IV, paragr. 9).

D'après WIDAL et SICARD, DREYER et WALKER (1909), GLASNER (1905), le plasma serait un peu plus agglutinant que le sérum, parce que le fibrinogène contiendrait plus d'agglutinine que la globuline. Toutefois, dans la tuberculose, d'après FIGARI (1904), le sérum serait plus riche en agglutinine que le plasma, ce qui prouverait que le fibrinogène serait moins chargé d'agglutinine tuberculeuse que la globuline.

« La réaction agglutinante s'observe toujours très intense dans la sérosité des vésicatoires, il s'agit ici du plasma sanguin presque en nature filtrant artificiellement à travers la paroi des capillaires. » WIDAL et SICARD (1897).

ACHARD et BENSAUDE, pour la salive, WIDAL et SICARD, pour le liquide des vésicules séminales, trouvent que ces humeurs ne contiennent pas d'agglutinine.

Le liquide céphalo-rachidien des malades atteints de méningite cérébrospinale n'en contient habituellement pas [BECHT et GREER (1910)]. Toutefois on en trouve généralement chez les animaux ayant été immunisés avec le méningocoque.

D'après WIDAL et SICARD (1897), l'humeur aqueuse des malades typhiques ne contient pas d'agglutinine, mais celle des lapins immunisés contre le bacille typhique en révèle fréquemment. MANOUELIAN (1911) trouve dans l'hu-

meur aqueuse d'animaux immunisés 1.000 fois moins d'agglutinine que dans leur sang.

Ces mêmes auteurs ne trouvent habituellement pas d'agglutinine dans les larmes normales, mais elle apparaît dans les larmes provoquées.

On peut dire que le lait contient de l'agglutine à peu près toutes les fois que le sang lui-même en contient. La teneur moyenne est, d'après Kraus, environ de 1/10 de celle du sang, mais on en trouve fréquemment davantage. Dans quelques cas, on a même vu le contenu du lait en agglutinine dépasser celui du sang, notamment quelques jours après la naissance, c'est-à-dire quand le lait est encore à l'état de colostrum. Staubli (1903) trouva, dans un cas, le lait agglutinant à 1/2,800 pendant que le sérum n'agglutinait qu'à 1/400. Ces constatations ont conduit certains auteurs à penser que les glandes mammaires fabriquaient de l'agglutinine. Il n'est pas possible de solutionner cette question car les glandes mammaires peuvent très bien avoir la propriété de retenir l'agglutinine du sang, de l'accumuler dans leurs cellules et de la déverser ensuite dans le lait.

En ce qui concerne l'agglutinine contenue dans les liquides d'excrétion : bile, urine, etc., voir plus loin paragr. 12.

§ 9. — ORIGINE DES AGGLUTININES

Les agglutinines sont des produits de l'organisme humain ou animal et non pas des sécrétions bactériennes. Malvoz (1899) ayant remarqué que de vieilles cultures charbonneuses filtrées sont en état d'agglutiner le bacille du charbon, Emmerich et Low (1899), que la pyocyanase

produit l'agglutination du bacille du pus bleu, certains auteurs en ont conclu que les agglutinines étaient des produits fabriqués par les bactéries, soit dans les cultures, soit dans le sang. Il n'en est rien, car la plupart des cultures filtrées ou des extraits bactériens ne sont pas agglutinants ; cependant, une fois injectés à des animaux, ces produits déterminent la production d'agglutinine dans l'organisme. Le pouvoir agglutinant constaté par MALVOZ et par EMMERICH et LOW dans leurs cultures est dû vraisemblablement à un produit autre que l'agglutinine spécifique. C'est donc plutôt une sorte d'agglutination chimique (1).

La substance agglutinogène agit-elle à la façon d'un ferment soluble en transformant des substances dissoutes dans les humeurs en agglutinine sans le concours direct des cellules de l'organisme ? La chose est peu probable. S'il en était ainsi, la production d'agglutinine devrait avoir lieu également *in vitro* ; ce qui n'est pas. De plus, dans l'immunisation par voie sous-cutanée, c'est au point d'inoculation que l'agglutinine devrait apparaître en premier lieu et en plus grande quantité que partout ailleurs. Or, il n'en est rien. ACHARD (1896) et d'autres auteurs ont toujours trouvé l'agglutinine dans le sang circulant en premier lieu et en plus grande quantité que dans toute autre partie de l'organisme. Les ferments solubles ont d'ailleurs une action rapide, tandis qu'ici l'agglutinine n'est formée qu'après plusieurs jours. Enfin, COURMONT (1897) observe que le sang prélevé quelques heures après la mort n'est jamais plus agglutinant que celui prélevé peu de temps avant la mort.

---

(1) Le filtrat de culture charbonneuse ne paraît pas spécifique puisqu'il agglutine aussi le bacille coli.

La substance agglutinogène ne nous apparaît donc pas comme exerçant son action seule sans le concours de cellules vivantes de l'organisme.

L'agglutinine ne serait-elle que de la substance agglutinogène transformée par les cellules de l'organisme animal par une opération comparable à la polymérisation ? Cette hypothèse paraît risquée, car il est difficile de concevoir pourquoi l'expérience montre une telle disproportion entre la substance agglutinogène inoculée et l'agglutinine produite. Une unité de substance agglutinable pourrait dans ce cas déterminer dans le corps d'un animal des millions d'unités d'agglutinine. Il est plus vraisemblable d'admettre que les cellules de l'organisme qui fabriquent l'agglutinine reçoivent une certaine excitation au contact de la substance agglutinogène. Cette excitation aurait pour conséquence une sécrétion d'agglutinine par ces cellules, aux dépens des matériaux tirés de leur propre substance.

Quels sont maintenant les organes ou les cellules de l'organisme qui élaborent l'agglutinine ? Les globules du sang, le tissu glandulaire ou tout autre tissu ? Il est impossible actuellement de donner une réponse ferme à cette question. Aucune expérience concluante n'existe, ainsi que nous allons le voir.

Nous avons vu que c'est dans le sang que se trouve l'agglutinine en plus grande quantité et en premier lieu. Il ne s'ensuit pas forcément que ce sont les globules sanguins qui la secrètent. Elle peut très bien être fabriquée par certains organes et être déversée immédiatement dans le sang.

Si l'on attribue, avec Courmont et Arloing (1900), la formation de l'agglutinine aux globules sanguins, il est naturel de songer tout d'abord aux leucocytes. Ces éléments

jouant un très grand rôle dans l'immunité et la défense de l'organisme, notamment en secrétant l'alexine et les sensibilisatrices, ne formeraient-ils pas également de l'agglutinine ?

Un seul argument milite en faveur de cette hypothèse. C'est la fixation de l'agglutinine sur la globuline et le fibrinogène : substances issues des globules blancs (1). Par contre, un fait important empêche d'admettre pour l'agglutinine une origine globulaire : l'extrait leucocytaire ne contient pas d'agglutinine.

Widal et Sicard ont démontré en outre, qu'ajoutés à un milieu humoral les globules blancs ne l'enrichissaient pas en agglutinine.

« Si dans un tube de collodion stérilisé, on reçoit quelques centimètres cubes de sang sur 1 cent cube d'oxalate de potasse à 5 p. 1000 la coagulation ne se produit pas. Les globules rouges se déposent rapidement au fond du tube et sont surmontés d'une petite couche de globules blancs, le plasma surnage au-dessus de ce dépôt. Enlevons avec une pipette tout ce que nous pouvons de ce liquide ; puis, au-dessous de la couche de globules blancs, pratiquons une ligature de façon à les laisser emprisonnés avec la plus petite quantité possible de globules rouges et de plasma. Abandonnons à lui-même pendant 24 ou 48 heures le mélange ainsi isolé au-dessus de la ligature. Comparons alors d'une part le pouvoir agglutinatif de la petite quantité de plasma laissée en contact prolongé avec les leucocytes, et d'autre part, celui du plasma prélevé auparavant, nous verrons que ce pouvoir est sensiblement égal. » Widal et Sicard. Etude sur le serodiagnostic. Annales Pasteur 1897, p. 377.

---

(1) Il est vrai que WIDAL et SICARD ont également trouvé l'agglutinine fixée sur la lactalbumine.

En même temps que Widal et Sicard, Achard et Bensaude sont arrivés par une autre voie aux mêmes résultats. Ces expérimentateurs retenaient en grande partie les leucocytes en filtrant sur un tampon de ouate le sang mélangé à l'extrait de sangsue et constataient que ces globules ne contenaient pas d'agglutinine.

Dans l'extrait péritonéal où les globules blancs sont particulièrement nombreux, on ne constate pas une agglutination aussi intense que dans le sang. Mac Farland (1912) trouve même que la période de l'infection où les leucocytes sont le moins abondants, correspond à la plus forte dose d'agglutinine dans le sang.

Rien donc ne légitime cette hypothèse que les leucocytes sont des producteurs d'agglutinine. Pour leur attribuer une participation dans la production de cet anticorps, Gruber (1896) émit l'hypothèse qu'ils transportaient la substance agglutinogène vers les organes producteurs d'agglutinine. Mais à notre connaissance, personne n'a montré que les leucocytes prélevés quelques jours après une inoculation sont chargés de substance agglutinogène et que, injectés à des animaux, ils déterminent la formation d'agglutinine.

En ce qui concerne les hématies, elles ne contiennent ni substance agglutinable, ni agglutinine. Elles ne produisent donc pas cet anticorps. [Kraus et Schiffmann (1906)].

Si l'agglutinine ne paraît pas avoir une origine globulaire certaine, peut-être provient-elle d'autres organes : soit du tissu épithélial vasculaire, soit du tissu glandulaire. Kraus et Schiffmann (1906) pensent qu'il faut en chercher l'origine dans l'endothélium vasculaire, mais nous n'en avons trouvé de confirmation nulle part. Un certain nombre d'auteurs ont étudié les différentes glan-

des à secrétion interne au sujet de l'origine de l'agglutinine. Les uns attribuent à certaines glandes comme la rate et le foie notamment, la production de la substance agglutinante, les autres, au contraire, trouvent ces théories peu fondées. Nous allons examiner à quelles recherches se sont livrés ceux qui ont étudié cet aspect de la question et à quels résultats elles ont abouti.

Cantani (1903) pense que le foie est producteur d'agglutinine parce que, dans un certain nombre d'expériences, il a remarqué que le sang obtenu en exprimant le foie, a présenté un pouvoir agglutinant plus prononcé que le sang retiré du cœur. Cette forte agglutination relative n'était pas due à la bile qui est toujours très faiblement agglutinante (par agr. 12). Deutsch (1899), Courmont (1897) Castellani (1902), Pfeifer et Marx (1898), Wassermann, etc., trouvent que l'extrait des organes vides de sang, notamment de la rate, et des autres glandes lymphoïdes serait agglutinant. Par contre, Asakawa ne trouve pour ainsi dire pas trace d'agglutinine dans ces extraits. Dans quelques cas, Van Emden (1899), Jatta (1900) constatent que l'agglutinine apparaît plus tôt et en plus grande quantité dans les glandes que dans le sérum, mais pour la plupart des expérimentateurs, c'est dans le sérum qu'on trouve tout d'abord l'agglutinine et c'est lui qui agglutine au maximum. Ainsi Deutsch a rencontré un sérum agglutinant à 1 p. 100 pendant que l'extrait de rate, de moëlle, de ganglions n'agglutine qu'à 1 p. 20. Ce fait ne saurait cependant prouver à lui seul que ces organes ne contribuent pas à la sécrétion de l'agglutinine : celle-ci peut être déversée dans la circulation sitôt élaborée par la cellule, de sorte que l'extrait d'organe dépourvu de sang n'en conserve pas une quantité considérable. La cellule qui fabrique l'agglutinine peut aussi

la retenir (1) intimement et ne pas l'abandonner par simple compression ou dissolution.

Un autre fait milite en faveur d'un rôle joué par la rate et les organes lymphoïdes dans la formation de l'agglutinine : ces glandes retiennent de la substance agglutinogène. Ainsi que l'ont démontré DEUTSCH (1899), puis GAETGENS (1908), si l'on fait à un animal une injection de pulpe de rate, lavée et débarrassée de sang, prélevé sur un autre sujet préalablement inoculé quelques jours auparavant, cette injection détermine dans le sang du premier animal l'apparition d'agglutinine.

Ceci est évidemment une présomption sérieuse, toutefois, **il faut remarquer que DEUTSCH (1899), trouve parfois le sérum plus agglutinogène encore que l'extrait de rate. S'il est permis de supposer que la rate joue un rôle dans la secrétion de l'agglutinine, on ne saurait lui attribuer ce rôle à elle seule.**

En effet, DEUTSCH (1899), a constaté, en pratiquant la splénectomie sur des cobayes avant l'immunisation, que la production d'agglutinine avait lieu aussi bien chez ces animaux que chez des cobayes normaux. Au contraire, lorsqu'il faisait l'ablation de la rate quelques jours après l'inoculation de l'antigène, il constatait une forte diminution dans la production d'agglutinine. Cette anomalie apparente s'expliquerait dans l'hypothèse que la rate et les organes lymphoïdes fabriquent de l'agglutinine ; la rate venant à disparaître, les autres organes lymphoïdes suppléent à son action. Lorsque l'ablation de la rate est pratiquée quelques jours après l'inoculation de l'antigène, la rate est chargée d'une grande partie de la substance

(1) C'est une propriété bien connue du protoplasma de retenir intimement certains produits

agglutinogène. Il s'ensuit que la production d'agglutinine est diminuée.

Un autre argument a été invoqué en faveur de la production de l'agglutinine par les organes lymphoïdes : ainsi que l'ont montré Pfeiffer (1896), Widal (1897), etc. les petites saignées répétées qui donnent une certaine activité aux organes lymphoïdes, augmentent également la production d'agglutinine. Toutefois ces expériences renouvelées par Rothberger (1900), n'ont pas toujours donné des résultats concordants. (1)

Deutsch n'a trouvé qu'un organe contenant dans quelques cas plus d'agglutinine que le sang : c'est le poumon. **Faut-il en conclure nécessairement que les poumons sont des producteurs d'agglutinine ? D'abord ils pourraient retenir l'agglutinine circulant dans le sang et la condenser. De plus, Deutsch trouve qu'il n'y a pas concordance** entre la courbe d'agglutination du sérum et celle de l'agglutination du suc pulmonaire. Dans les premiers jours qui suivent l'inoculation de l'antigène, l'extrait pulmonaire est plus agglutinant que le sang, mais lorsque celui-ci acquiert des propriétés agglutinantes considérables, le pouvoir d'agglutination du suc pulmonaire n'est pas augmenté. Enfin, cette agglutination ne paraît pas être spécifique, puisque l'extrait de poumon peut agglutiner la plupart des microbes. Il semble donc qu'il s'agisse là d'une sorte d'agglutination chimique.

En ce qui concerne l'élaboration possible de l'agglutinine par les glandes mammaires (voir § 8).

Il n'est pas possible d'indiquer d'une façon certaine

---

(1) D'après COURMONT, la rate détruirait l'agglutinine. Il est curieux de constater que cette glande serait à la fois productrice et destructrice d'agglutinine.

l'origine de l'agglutinine dans l'organisme. Il y a quelques raisons d'accepter avec PFEIFFER et MARX l'idée d'une participation des organes lymphoïdes à la production de l'agglutinine.

§ 10. — L'AGGLUTININE DANS LE FŒTUS. HÉRÉDITÉ. — TRANSMISSION D'AGGLUTININE DE LA MÈRE A L'ENFANT.

Dans un certain nombre de cas, on constate que des enfants nés de parents dont le sang contient de l'agglutinine en révèlent également dans le leur. Ce fait observé pour la première fois par WIDAL et SICARD (1897) est confirmé par ACHARD, MOSSÉ et DAUNIC (1897), et par un grand nombre d'autres auteurs.

D'après HAWTHORN (1904), l'agglutinine tuberculeuse se transmettrait presque toujours de la mère au fœtus, le taux agglutinant de ce dernier serait même parfois égal à celui de la mère.

SCHUMACKER (1901), trouve que sur 41 femmes en couches bien portantes dont le sang agglutinait le bacille typhique à 1/10, 7 enfants avaient aussi un sang agglutinant ce microbe au même taux ; pour d'autres enfants le sang était moins agglutinant que celui des parents, enfin pour quelques-uns, il ne l'était pas du tout. JUREWITZ (1903), trouve que sur 31 cobayes femelles dont le sang était agglutinant pour le bacille typhique dans trois cas seulement le sang des jeunes n'était pas agglutinant du tout. D'une façon générale, le sang du fœtus serait 10 fois moins agglutinant que celui de la mère. D'après REMLIN-

GER (1899), l'agglutinine typhique se constate dans le sang des petits surtout lorsque la mère a été immunisée ou malade au cours de la gestation. Toutefois on peut constater une absence complète d'agglutination même chez des enfants nés pendant la maladie de la mère et dont le sang est très agglutinant. S'agit-il dans les cas positifs du passage direct de l'agglutinine de la mère à l'enfant ou d'une production d'agglutinine par le fœtus même, soit par des dispositions héréditaires, soit par passage au travers du placenta de bacilles ou de substance agglutinogène ? Nous allons examiner ces différentes hypothèses.

Passage de l'agglutinine de la mère à l'enfant

Comme l'agglutinine trouvée chez le fœtus existe généralement en quantité beaucoup plus faible que chez la mère et qu'elle disparaît peu après la naissance, il est naturel de penser d'abord à un passage de l'agglutinine de la mère à l'enfant. On peut constater directement ce passage ; par une injection de sérum agglutinant à des cobayes femelles gravides, on trouve de l'agglutinine dans le sang des jeunes, agglutinine passive qui disparaît d'ailleurs très rapidement chez la mère et chez les petits.

Production d'agglutinine chez le fœtus

On a signalé parfois plus d'agglutinine dans le sang du fœtus que dans celui de la mère.

JUREWITZ constate que 4 jeunes cobayes de la même mère chez qui avait été provoqué le pouvoir agglutinant

par vaccination avant le début de la gravidité montrent un pouvoir agglutinant plus grand que celui de la mère.

Pagès et Lagriffoul (1903), ont vu que le fœtus d'une femme tuberculeuse était plus agglutinant que le sang de la mère.

Etienne (1899), signale également un cas intéressant ; il s'agit du fœtus d'une femme morte de fièvre typhoïde qui montrait une agglutination de 1/200 alors que le sang du cœur de la mère n'était agglutinant qu'à 1/150. Le liquide amniotique agglutinait également à 1/200. La recherche du bacille typhique dans le fœtus donnait un résultat négatif.

Dans ces différents cas, il y a bien production directe d'agglutinine par le fœtus. L'hypothèse, toute gratuite d'ailleurs, d'une accumulation de l'agglutinine maternelle dans le corps du fœtus jusqu'au moment de la naissance doit être repoussée, car, par injection d'agglutinine passive à la mère pendant la gravidité, jamais on n'a observé plus d'agglutinine chez l'enfant que chez la mère.

Il peut donc y avoir production autonome d'agglutinine par le fœtus. Lorsque cette production a lieu, est-elle due à une influence héréditaire ou simplement à l'arrivée de substance agglutinogène, dans le fœtus qui réagit en secrétant l'anticorps ? Il est difficile de répondre à cette question. Les deux hypothèses sont vraisemblables. L'hérédité maternelle, eu égard à l'agglutination, paraît avoir été démontrée par l'expérience suivante. Jurewitz (1903), a constaté que des jeunes lapins dont les parents avaient un sérum non agglutinant ne présentaient par la suite aucune agglutination, tandis que d'autres lapins, nés d'une mère dont le sérum était agglutinant pour le bacille typhique, agglutinaient quelques semaines après leur naissance. Par

contre l'hérédité paternelle n'existe pas ainsi que l'ont fait voir les expériences de Remlinger (1899).

Souvent, on trouve dans le fœtus le même microbe que dans la mère, il est tout naturel, dans ce cas, de considérer le fœtus, quant à la producton d'agglutinine, comme un être complet infecté. Même lorsque l'analyse bactériologique ne révèle dans le fœtus aucun microbe (cas d'Etienne) on ne possède pas une preuve absolue de l'absence de germes. En outre, à défaut de corps microbiens, les substances agglutinogènes issues des microbes ont pu passer dans le fœtus qui réagit en produisant de l'agglutinine.

§ 11. — AGGLUTININE PASSIVE DANS L'ORGANISME. — DATE D'APPARITION. — DISPARITION.

L'agglutinine passive, c'est-à-dire acquise par injection à un animal, d'un sérum agglutinant, apparaît, nous l'avons vu, très rapidement dans le sang, en quelques heures, selon Widal et Sicard. Sa présence n'est que momentanée, elle disparaît très rapidement après quelques jours. (Widal et Sicard, Kraus et Joachim. Jorgensen et Madsen 1902).

L'agglutinine passive introduite par voie stomacale. — Après ingestion de lait contenant de l'agglutinine, celle-ci ne se retrouve-t-elle pas la plupart du temps dans la circulation ? Widal et Sicard ont observé un homme ayant chaque jour, et cela pendant 3 semaines, absorbé un demi litre de lait de chèvre agglutinant à 1/400. Le sang de cet homme n'a jamais été agglutinant. Le grand nombre de cas où l'agglutinine ne passe pas dans le corps par inges-

tion de lait serait dû, d'après Courmont, à la teneur habituellement faible du lait en agglutinine et à sa destruction par les sucs gastriques. Cette hypothèse est plausible. Mais à côté de nombreux cas négatifs, on constate parfois nettement le passage de l'agglutinine du lait dans l'organisme par voie stomacale : Widal et Sicard (1897) observent ce passage chez la souris, mais non chez d'autres espèces animales : chat, cobaye, etc., Remlinger (1899) ne le trouve pas non plus chez le cobaye et le lapin. Courmont et Cade (1899) observèrent dans le cas d'une femme typhique qui allaitait son enfant, une agglutination du sérum maternel à 1/200, du lait à 1/30, et du sérum de l'enfant à 1/10. L'enfant nourri artificiellement, l'agglutination de son sang disparut. Landouzy et Griffon (1897), Bossaert (1898), signalent des cas tout à fait analogues. Castaigne (1897) a publié le cas d'une nourrice atteinte de fièvre typhoïde. Le sang de l'enfant se montra agglutinant aussi longtemps que le lait maternel le fut, quand l'agglutinine disparut du lait, elle disparut également du sérum de l'enfant. Le même auteur ayant provoqué chez de jeunes lapins un ulcère stomacal, a constaté que le passage de l'agglutinine dans le nourrisson était facilité. Dans tous les cas où il y a passage d'agglutinine par ingestion de lait, peut-être a-t-il lieu à la faveur d'une lésion gastro-intestinale ?

Tous les cas positifs que nous venons de signaler ne se produisent que lorsque l'allaitement a lieu pendant la maladie de la mère ; d'autre part, dans tous les cas négatifs, l'allaitement a lieu en l'absence d'infection maternelle ou quelque temps après la disparition de l'infection. On est en droit de se demander, dans les cas positifs, s'il y a transmission de microbes ou de substance agglutinogène par le lait. Pour résoudre cette

question d'une manière définitive, il faudrait s'assurer dans les différents exemples cités :

1° Que le bacille typhique n'est pas passé dans le lait ;

2° Que le lait en question ne contient pas non plus de substances agglutinogènes, c'est-à-dire que l'injection de ce lait à un animal ne détermine pas dans son sang la production d'agglutinine.

§ 12. — ÉLIMINATION DE L'AGGLUTININE

Nous savons peu de chose sur l'élimination de l'agglutinine.

Cet anticorps pouvant passer dans les liquides d'excrétion, ne serait-ce pas dans ces liquides qu'il serait éliminé en plus grande quantité ?

Widal et Nobécourt (1897) ont montré que le taux agglutinant de l'urine dépassait rarement 1/10 alors même que celui du sérum était élevé et atteignait 1/7.000. Chez une chèvre, dont le sang agglutinait à 1/8.000, l'urine ne possédait aucun pouvoir agglutinant. En outre, la faible action agglutinante rencontrée dans une urine peut être due à d'autres produits que l'agglutinine ; il s'agit alors d'une pseudo-agglutination non spécifique.

Staubli (1903), Hœsslin (1907) n'ont trouvé de l'agglutinine véritable dans l'urine que lorsque celle-ci était albumineuse.

Comme on le voit, les reins sont des organes d'élimination de l'agglutinine très peu actifs. Il en est de même du foie. D'après Cantani, la bile est, en effet, très peu riche en agglutinine ; jamais cet auteur ne l'a trouvée aussi agglutinante que le sérum.

Ajoutons qu'une partie de l'action agglutinante de la bile peut être due à une certaine quantité de sang qui s'y trouve mêlé lors de l'extraction de la bile de la vésicule.

Les autres liquides d'excrétion se montrent habituellement peu riches en agglutinine. D'après ACHARD et BENSAUDE (1896), la salive n'est pas agglutinante. Les larmes peuvent contenir de l'agglutinine. SCHULTZ (1905) en trouve d'agglutinantes à 1/275, STAUBLI (1903) les trouve dans un cas agglutinantes seulement à 1/10, alors que le sérum l'était à 1/25.000. Cet auteur ne trouve qu'une très faible agglutination dans l'urine, la bile, les larmes, le liquide amniotique.

On pourrait se demander pourquoi il y a si peu d'agglutinine dans ces divers produits de secrétion et d'excrétion. Ne serait-elle pas détruite par des substances contenues dans ces liquides ? STAUBLI croit montrer qu'il n'en est rien, puisque du sérum agglutinant mélangé à ces divers liquides conserve intégralement son pouvoir agglutinant. Quoi qu'il en soit, il n'apparaît pas que les liquides d'excrétion de l'organisme éliminent l'agglutinine d'une façon active.

Ainsi qu'on le voit, l'agglutinine s'élimine faiblement en nature par les liquides d'excrétion. Or, comme l'ont déjà montré WIDAL et SIGARD, chez les typhiques par exemple, un pouvoir agglutinant très élevé peut s'abaisser brusquement en quelques jours, au moment de la convalescence. Qu'est devenue cette importante quantité d'agglutinine disparue ? Il est probable qu'elle est détruite dans l'organisme même. D'après COURMONT, c'est le foie et la rate qui remplissent cette fonction destructive, car le sang des vaisseaux, provenant de ces organes, serait moins agglutinant que celui qui y pénètre : cinq fois

moins pour le foie, quinze fois moins pour la rate. COURMONT attribue la disparition de l'agglutinine dans ces organes à son absorption par les microbes qui y vivent en grand nombre.

RÉSUMÉ DU CHAPITRE IV

Les bacilles vivants ou morts, virulents ou non, ciliés ou dépourvus de fouets, les spores, les extraits microbiens obtenus par pression ou par lixiviation, les filtrats de cultures, etc., déterminent généralement la production d'agglutinine lorsqu'ils pénètrent dans la circulation d'un organisme supérieur et quel que soit leur mode de pénétration. La quantité d'antigène injecté et la fréquence des inoculations augmentent dans une certaine mesure la production d'agglutinine. Tous les animaux supérieurs et certains animaux à sang froid, tels que les batraciens, peuvent produire de l'agglutinine.

Le taux des sérums agglutinants est variable avec les espèces bactériennes, avec la nature de l'animal, le mode et la durée de l'immunisation, etc...

L'agglutinine apparaît dans le sang d'un sujet injecté habituellement entre le troisième et le neuvième jour qui suivent la première inoculation ; elle persiste un temps variable et disparaît le plus souvent quelques mois après la fin des inoculations. On peut cependant la rencontrer encore après plusieurs années.

La plupart des humeurs de l'organisme contiennent aussi de l'agglutinine, mais en quantité moindre que le sang.

L'agglutinine peut passer de la mère au fœtus. Celui-ci peut également produire cet anticorps.

L'agglutinine ne se trouve qu'en très faible quantité dans les liquides d'excrétion. Elle ne paraît pas être éliminée en nature, mais plutôt détruite à l'intérieur de l'organisme (par le foie et la rate, suivant COURMONT).

CHAPITRE V

L'ANTICORPS

(Suite)

AGGLUTINATION NORMALE. -- COAGGLUTINATION. SPÉCIFICITÉ DE L'AGGLUTININE

L'agglutination des microbes par leur antisérum homologue n'est pas absolument spécifique. On peut rencontrer des sérums normaux qui agglutinent plusieurs microbes à des taux variables, mais tous relativement faibles. On trouve également des antisérums qui agglutinent, en plus de leur bactérie homologue, des microbes appartenant à d'autres espèces. Le titre de cette coagglutination est en général infiniment moins fort que celui de l'agglutination spécifique.

1re PARTIE. — Agglutination par les sérums normaux

Les premiers observateurs du phénomène : BORDET, GRUBER, WIDAL, SICARD, etc., connaissaient déjà l'agglutination par les sérums normaux. WIDAL et SICARD (1897), COURMONT (1897) virent que la plupart des sérums humains exercent une action légère sur le coli-bacille. WIDAL et SICARD trouvèrent que « le sérum normal de l'homme est en général dénué de pouvoir agglutinatif pour le bacille d'EBERTH. Il ne se prête que rarement à la formation instantanée d'amas véritables, même après dilution dans la proportion de 1 pour 5. » (Annales Institut PASTEUR 1897, page 389.) Depuis, on a reconnu que le sérum normal humain était assez souvent agglutinant pour le bacille typhique ; il l'est aussi pour beaucoup d'autres microbes : bacille pyocyanique, bacille de FLEXNER, staphylocoque *M. melitensis* etc. D'après KRAUS et LŒW, il nagglutine ni le bacille de FRIEDLANDER, ni le vibrion cholérique.

La plupart des sérums des animaux, n'ayant été ni infectés, ni immunisés montrent fréquemment de l'agglutination pour différents microbes. Parmi les sérums normaux qui montrent habituellement, au taux le plus élevé, la propriété agglutinante pour un grand nombre d'espèces bactériennes, citons le sérum de cheval et celui de bovidées. BORDET (1899) constate que le sérum de cheval et d'âne est généralement agglutinant pour le bacille d'EBERTH ; d'après KRAUS et LOW, il agglutine également *B. Coli*, *Vibrio Danubicus*, *Vibrio Metschnikowi*, *B. tétani*, *B. pyocyaneus*, etc.. D'après les observations de NICOLLE et TRENEL (1902), de WIDAL et SICARD (1897), le

sérum de lapin et celui de cobaye sont, par contre, sans action sur la plupart des microbes. BURGI (1907) qui a essayé l'action des sérums normaux de 10 espèces animales différentes vis-à-vis de 19 espèces microbiennes, les classa d'après leur pouvoir agglutinant suivant cet ordre décroissant : *bœuf*, *cheval*, *chèvre*, *mouton*, *poule*, *oie*, *chien*, *lapin*, *homme et cobaye*.

Le taux agglutinant des sérums normaux est relativement faible. Les sérums normaux, humains ou animaux, sont rarement agglutinants au-delà de 1/30 pour le bacille d'EBERTH (1), de 1/50 pour le bacille de FLEXNER, 1/60 pour *M. melitensis* et de 1/200 pour *B. coli* : exceptionnellement, on rencontre un taux agglutinant plus élevé, surtout quelque temps après une maladie.

BURGI (1907) a pensé que l'agglutination normale des bactéries était due à la même substance agissant indifféremment sur la plupart des microbes, mais BORDET (1899) a montré qu'il s'agissait bien d'agglutinines spécifiques. Un sérum normal mis en contact avec des bacilles d'EBERTH, par exemple, perd son pouvoir agglutinant pour ce bacille, mais conserve intégralement son action sur le bacille pyocyanique. A ce point de vue, les agglutinines normales ne se différencient donc pas des agglutinines spécifiques obtenues par vaccination ou par infection.

Les agglutinines normales seraient, d'après RODET (1903), moins résistantes à la température : cet auteur a vu qu'elles pouvaient être détruites en partie à 56°, alors qu'un antisérum n'est généralement altéré dans son pouvoir agglutinant que par un chauffage à 60°. NEGRÉE et RAYNAUD (1911) trouvent que certains sérums

(1) SCHELLER (1904) trouve que le sérum normal de cheval agglutine parfois le bacille d'EBERTH au 1/100.

chauffés une demi-heure à 56° perdent leurs agglutinines normales et conservent leurs agglutinines spécifiques , aussi, conseillent-ils de chauffer les sérums devant servir au sérodiagnostic. Mais ces observations ne sont pas spéciales aux sérums normaux. On a vu également des antisérums spécifiques qui perdaient par chauffage à 56° leur pouvoir agglutinant. C'est le cas notamment des sérums pesteux [KOLLE (1906)] et tuberculeux [ROMBERG (1901)].

Il faut également faire une autre réserve à propos de l'interprétation des expériences de RODET, NÉGRÉE et RAYNAUD. Ces auteurs opéraient sur des sérums normaux agglutinant à des taux relativement faibles : 1/5, 1/10 et sur des immunsérums de titre beaucoup plus élevé 1/1.000, 1/2.000. Une légère modification déterminée par la chaleur dans un sérum (augmentation de viscosité, par exemple), peut diminuer très légèrement le pouvoir agglutinant dans les fortes concentrations de sérum, 1/5, 1/10, et être sans action en dilutions étendues 1/1.000, 1/2.000.

Il n'y a donc pas lieu de faire de différences entre les agglutinines spécifiques et les agglutinines normales.

La production des agglutinines normales est, semble-t-il, due au parasitisme des microbes. Ceux-ci vivent en grande quantité dans le tube digestif où nombre d'espèces sont représentées. Il est probable que les bactéries ou leurs substances agglutinogènes pénètrent dans la circulation, soit en traversant la muqueuse du tube digestif soit directement lorsque celle-ci est ulcérée.

GRUNBAUM (1897), PFAUNDLER (1898), KRAUSS et LŒW (1899), etc. trouvent que le sérum normal du foetus et celui du nouveau-né est très rarement et très peu agglutinant. Il semble donc bien que c'est l'invasion des bactéries dans le tube digestif qui détermine la production

des agglutinines normales. La haute valeur agglutinante qu'on rencontre généralement dans le sang humain pour le bacille coli s'explique du fait que ce microbe est un hôte habituel de l'intestin.

Le titre agglutinant élevé constaté chez la plupart des typhiques guéris pour le bacille d'Eberth est dû vraisemblablement dans tous les cas à la persistance de ce germe dans l'intestin : l'analyse des fèces en apporte fréquemment la preuve.

2e PARTIE. — Coagglutination.

§ 1. — DÉFINITION DU PHÉNOMÈNE

Un microbe est agglutiné par son sérum homologue, il peut l'être légèrement par le sérum d'un sujet normal ; enfin un antisérum hétérologue peut également l'influencer mais à un degré relativement faible. Ce dernier phénomène est connu sous le nom de *coagglutination*. Une agglutinine agissant sur une espèce hétérologue est une coagglutinine pour ce microbe. Widal et Sicard (1896), Gilbert et Fournier (1896) ont vu que le sérum typhique agglutinait non seulement le bacille d'Eberth, mais aussi, bien qu'à un degré moindre, celui de la psittacose. Achard et Bensaude (1896), Courmont (1897), etc. ont vu que le sérum typhique pouvait agglutiner des espèces hétérologues, notamment le bacille coli, les bacilles paratyphiques, etc. Depuis, la coagglutination a été l'objet de nombreuses études délicates et complexes dont les résul-

tats sont loin d'être concordants. Pour l'étude de la spécificité considérée dans ses rapports avec l'agglutination nous ferons état des observations faites en laboratoire avec des sérums expérimentaux plutôt que des résultats de la clinique qui manquent généralement de rigueur.

§ 2. — COAGGLUTINATION ET PARENTÉ DES ESPÈCES

a) Agglutination de groupe

La coagglutination s'observe surtout pour une espèce voisine de l'espèce homologue : un sérum typhique agglutine très fréquemment un bacille paratyphique. Pour Widal et Sicard, « le sérum est tellement marqué au sceau du microbe infectant que mis en présence d'espèces voisines, il trahit leur communauté de races par une réaction agglutinante presque proportionnelle à leur degré de parenté. » Widal et Sicard (Sériodiagnostic Annales Pasteur 1897, p. 190.) Pfaundler (1889), ayant remarqué également que la coagglutination se montrait le plus souvent pour les bactéries voisines de l'espèce homologue, désigne ce phénomène sous le nom d' « agglutination de groupe ». Suivant cet auteur, elle serait due à l'action d'une agglutinine commune à tout un groupe de bactéries qui s'ajouterait à celle de l'agglutinine d'espèce. Ainsi dans le groupe des paratyphiques, il existerait une agglutinine commune à toutes les espèces du groupe, de sorte que le bacille paratyphique A, par exemple, subirait en plus de l'action de son agglutinine homologue, celle de l'agglutinine du groupe. L'agglutination d'une

espèce donnée par son sérum serait donc toujours supérieure à la coagglutination par ce même sérum d'une autre espèce, du même groupe, ce qui est conforme à l'expérience. Cependant, le mot groupe ne doit pas être pris ici dans le sens bactériologique du mot. Dans les groupes les plus homogènes, il peut y avoir pour certaines espèces du groupe, absence de coagglutination, alors qu'elle peut avoir lieu pour une espèce ne faisant manifestement pas partie du groupe bactériologique (1). Les groupes de bactéries constitués d'après leur coagglutination, ne concordent donc pas toujours avec ceux établis d'après la parenté des espèces. Le mot « agglutination de groupe » ne doit donc pas être pris dans un sens trop absolu.

b) Agglutination d'espèce.

Dans une espèce bien homogène, le bacille d'Eberth, par exemple, on constate qu'un sérum antityphique de provenance quelconque agglutine tous les échantillons de bacile d'Eberth, normalement agglutinables ; il semble donc bien n'y avoir ici qu'une seule agglutinine pour toute l'espèce, l'agglutinine typhique. Dans les espèces moins homogènes comme le bacille coli, le streptocoque, etc.., au contraire la règle générale est qu'une culture déterminée n'est agglutinée que par son sérum homologue. Celui-ci n'a souvent qu'une action coagglutinante,

---

(1) LUBOWSKY et STEINBERG (1904) constatent une coagglutination des bacilles typhiques par du sérum de lapin ayant reçu des injections de *B. proteus*. Tous les animaux préparés n'ont pas donné cette réaction. On ne peut pas parler ici d'agglutinines de groupes. Il s'agit de bactéries qui possèdent en commun des agglutinogènes partiels. (Voir § 5.)

très faible pour un autre échantillon ou une autre race de la même espèce. Zupnick (1906) a voulu, dans ce cas, distinguer une agglutinine commune à toutes les bactéries de la même espèce, agglutinine qui ajouterait son action à celle de chaque échantillon. Ainsi s'expliquerait la coagglutination à l'intérieur d'une espèce. Mais ici, encore, le terme d' « agglutinine d'espèce » est impropre pour désigner les coagglutinines, car la coagglutination peut manquer pour un échantillon de la même espèce et se produire pour un échantillon, d'une espèce différente ; elle paraît dépendre uniquement de l'état de la substance agglutinable. Un échantillon de bacille coli pourra fournir un sérum sans action sur une autre race de bacille coli et coagglutinant pour le bacille typhique. Ainsi la coagglutination, comme nous l'avons dit, ne témoigne pas nécessairement de la parenté des espèces, mais simplement de la ressemblance de leur substance agglutinable. Toutefois c'est généralement entre deux microbes voisins qu'on l'observe le plus souvent.

§ 3. — VARIATIONS DE LA COAGGLUTINATION

a) Suivant la nature de l'antigène

La coagglutination se rencontre à des degrès divers suivant les espèces bactériennes. Une espèce bien isolée, nettement différenciée des autres espèces, produit un sérum coagglutinant pour un petit nombre de germes hétérologues. Au contraire, une bactérie, qui est apparentée à beaucoup d'autres, pourra fournir un sérum coagglutinant de nombreuses espèces et à un taux relative-

ment élevé. Tous les changements qu'on peut produire dans la substance agglutinogène (voir ch. III) sont susceptibles d'entraîner dans leur sérum l'apparition ou la disparition d'actions coagglutinantes. Le séjour d'une bactérie dans différents hôtes peut aussi faire varier la force et le nombre des actions agglutinantes, de son antisérum homologue. Ainsi, l'antisérum d'un *B. enteritidis* isolé, d'un organisme humain est fréquemment coagglutinant pour le bacille typhique, tandis que celui du même microbe provenant de la dysenterie des veaux, n'a aucune action sur le bacille typhique.

A signaler aussi comme changement de propriétés agglutinogènes entraînant un changement dans la coagglutination le phénomène appelé par KUHN et WOITHE « paragglutination » (1909). Ces auteurs ont remarqué que des cocci retirés de l'intestin d'un individu atteint de dysenterie chronique étaient coagglutinés fortement par le sérum de FLEXNER et que, réciproquement, ces cocci provoquaient la formation d'un sérum coagglutinant le bacille de FLEXNER.

b) Suivant le taux agglutinant des sérums

Un facteur qui paraît influencer d'une façon très importante l'action coagglutinante d'un sérum, c'est le degré de son taux agglutinant. En immunisant un animal avec le bacille typhique et en recueillant son sérum à divers stades de l'immunisation nous verrons que la courbe du pouvoir coagglutinant du sérum pour le bacille coli, par exemple, n'est pas parallèle à celle du pouvoir agglutinant spécifique. Un sérum d'EBERTH de titre agglutinant peu élevé pourra exercer une coagglutination relativement forte pour le bacille coli, mais quand l'aggluti-

nation augmentera pour le bacille d'Eberth, la coagglutination augmentera d'une façon beaucoup moins marquée. Un immunsérum du titre de 1/100.000 nous donnera rarement une coagglutination supérieure à 1/1.000 pour le bacille coli. Ainsi dans l'identification d'une bactérie par un immunsérum expérimental de haute valeur agglutinante, les causes d'erreurs dues à la coagglutination ne sont pas à redouter.

c) Suivant la nature des organismes producteurs d'agglutinines

Si l'on inocule plusieurs animaux d'espèces différentes avec des microbes provenant de la même culture de bacille typhique, par exemple, on s'aperçoit parfois que les sérums obtenus présentent des actions coagglutinantes diverses et de titre variable. Le sérum de cheval pourra coagglutiner beaucoup d'espèces bactériennes, le sérum de lapin, au contraire, n'en agglutine que très peu et à un taux très faible. Il existe aussi des différences entre les individus de même espèce. Ainsi Lipschutz (1904), a obtenu trois sérums typhiques de chevaux agglutinant respectivement le bacille d'Eberth aux taux suivants : 1/10.000, 1/20.000, 1/20.000, les deux premiers coagglutinaient un paracolibacille à 1/200 et le bacille de Gartner à 1/200, le troisième était totalement dépourvu d'action coagglutinante.

D'après Kayser (1906), la formation des coagglutinines serait plutôt fonction de l'espèce animale que de l'espèce microbienne.

§ 4. — AGGLUTININES MULTIPLES ET COAGGLUTININES

Un organisme humain ou animal pouvant être infecté par plusieurs microbes à la fois produit des agglutinines correspondant à chacun des microorganismes infectants. Pour Ch. Nicolle (1901), la courbe typhique, par exemple, n'est pas modifiée si on injecte à un animal une culture pure de bacille d'Eberth ou si celle-ci est mélangée avec du bacille coli. Le développement d'une agglutinine n'influe pas, suivant Castellani (1902), sur celui d'une autre agglutinine. Lorsqu'un sérum est agglutinant pour deux espèces microbiennes, il ne faut pas en conclure nécessairement que l'agglutination la moins forte est une coagglutination, elle peut être due à l'action d'une agglutinine homologue de l'espèce la moins agglutinée. Dans ce cas, il y a infections et aglutinines multiples.

Castellani a établi en 1902 une méthode pour différencier dans un sérum les agglutinines véritables des coagglutinines. Il immunisa des lapins avec des bacilles typhiques, du bacille coli et du bacille pseudodysentérique, et d'autres, avec une seule de ces bactéries. Puis il fit absorber par les bactéries en expérience les différentes agglutinines produites. Voici les conclusions auxquelles il s'arrêta et que des travaux d'autres auteurs confirmèrent.

1° Un sérum provenant d'un animal traité par un seul microorganisme et manifestant, outre une agglutination pour l'espèce homologue, une coagglutination pour une espèce hétérologue, perd, lorsqu'il a été en contact avec le microorganisme infectant, à la fois son pouvoir agglutinant et son pouvoir coagglutinant. Si, par contre, on

ajoute à ce sérum le microbe hétérologue qui est coagglutiné, le sérum perd la totalité de son pouvoir coagglutinant et une faible partie de son pouvoir agglutinant. (1)

Enfin après addition à un sérum de microbes hétérologues non agglutinés, il n'y a aucune diminution du pouvoir agglutinant.

2° Le sérum d'un animal immunisé contre deux microbes A et B perd, si on y ajoute A, son pouvoir agglutinant pour ce microbe, mais garde à peu près en totalité son pouvoir agglutinant pour B. et réciproquement. En ajoutant à ce sérum les deux microbes à la fois, il perd son agglutination pour les deux espèces.

Il résulte des travaux de CASTELLANI qu'on peut différencier dans un sérum donné les agglutinines spécifiques des coagglutinines ; cette différenciation peut être importante dans la pratique du sérodiagnostic.

---

(1) Cette deuxième partie de la conclusion nous paraît sujette à de fortes réserves. CASTELLANI opérait sur un sérum de lapin immunisé contre le bacille typhique. Ce sérum était agglutinant ponr le bacille d'EBERTH à 1/10.000 et pour le bacille coli à 1/800. La diminution de pouvoir agglutinant par l'introduction dans le sérum du bacille coli paraît négligeable à cet auteur. Mais cette diminution existait, puisque le sérum dilué à 1/10.000 ayant été en contact avec le bacille coli, ne pouvait plus former à la même dilution que de petits amas (Kleine Haüfchen) avec le bacille typhique alors qu'avant le contact, il en formait de volumineux (Dicke Haufen). Si le taux coagglutinant du sérum avait été relativement plus élevé, la diminution du pouvoir agglutinant après introduction du microbe coagglutiné aurait sans doute été beaucoup plus sensible.

§ 5. — SPÉCIFICITÉ. — AGGLUTININES PARTIELLES

La simple constatation des faits montre que le phénomène de l'agglutination n'est pas rigoureusement spécifique. L'espèce bactérienne la plus différenciée peut donner une agglutinine possédant une affinité maxima pour sa bactérie homologue, mais pouvant également s'unir à d'autres bactéries. Ce n'est donc pas, ainsi que le faisait déjà remarquer Achard, l'agglutination qui est spécifique, mais le degré d'agglutination.

Durham (1900), Wassermann (1903), ont donné cependant une autre interprétation du phénomène. Lorsqu'un antisérum agglutine sa bactérie homologue, et coagglutine une espèce hétérologue, c'est que ces deux espèces possèdent des substanes agglutinogènes partielles communes ou « récepteurs » partiels communs provoquant la formation d'agglutinines partielles communes ou coagglutinines. Ces substances antigènes partielles ne sont pas décomposables, en substances agglutinogènes plus simples. Ces récepteurs partiels sont doués d'une spécificité rigoureuse, c'est-à-dire que chacun d'eux détermine la production d'un anticorps qui lui correspond comme « une clef à la serrure ». (Fischer) et qui ne peut se fixer sur aucun autre antigène. Soit, par exemple, le bacille typhique qui donne un sérum coagglutinant une race donnée de bacille coli. Supposons que la substance agglutinogène du bacille typhique soit formée de la somme des éléments suivants : a+b+c+d+e+f et que la substance agglutinogène du bacille coli en expérience ait comme éléments communs avec le bacille typhique les éléments e et f. Le bacille typhique produira une

agglutinine égale à la somme a'+b'+c'+d'+e'+f' dont deux éléments e' et f' seront communs à l'agglutinine du bacille coli et qui, par conséquent, agiront sur ce microbe en le coagglutinant. La somme a'+b'+c'+d'+e'+f' est l'agglutinine totale et chacun des éléments représente une agglutinine partielle. Les agglutinines partielles communes à deux espèces microbiennes déterminent la coagglutination.

L'hypothèse des agglutinines partielles a reçu un nouvel appui des travaux de CASTELLANI (voir § précédent). Ceux-ci ne sauraient s'accorder avec la conception d'une agglutinine unique même en ne lui attribuant qu'une spécificité relative, c'est-à-dire une grande affinité pour sa bactérie homologue et une affinité moindre pour la bactérie coagglutinée. On conçoit très bien que la bactérie homologue, en absorbant toute l'agglutinine unique fasse disparaître du même coup les actions coagglutinantes du sérum, mais ce qu'il est impossible de comprendre, c'est la disparition du seul pouvoir coagglutinant par l'addition des microbes coagglutinés. Dans l'hypothèse d'une agglutinine unique, l'addition suffisamment répétée de bactéries coagglutinées devrait amener la disparition totale de l'agglutinine, or, il n'en est rien.

Avec l'hypothèse des agglutinines partielles, au contraire, on comprend facilement que la bactérie coagglutinée fixe seulement les agglutinines partielles communes aux deux espèces (c'est-à-dire les coagglutinines), les agglutinines partielles restantes continuant à agglutiner la bactérie homologue du sérum.

La notion des agglutinines partielles douées d'une spécificité rigoureuse s'accorde-t-elle avec les faits ? Nous avons vu que les actions coagglutinantes d'un sérum peuvent varier suivant l'animal qui fournit le sérum,

cela serait dû à ce que tel animal réagirait plus facilement que tel autre vis-à-vis un antigène partiel donné. La durée de la préparation d'un animal, nous l'avons dit, influe sur la spécificité des sérums. Au début des inoculations, certaines agglutinines partielles apparaissent avant d'autres, de sorte que des actions coagglutinantes relativement fortes peuvent apparaître d'abord. Dans la suite de l'immunisation, toutes les agglutinines partielles sont également secrétées, c'est pourquoi un sérum fortement agglutinant possède des propriétés coagglutinantes plus régulières qu'un sérum de faible taux agglutinant.

Si la spécificité des agglutinines partielles est rigoureuse, on ne devra jamais observer une coagglutination supérieure à l'agglutination de la bactérie homologue lorsqu'on expérimente sur des cultures normalement agglutinables. C'est, en effet, ce que montre l'étude des sérums expérimentaux. Avec une espèce bien homogène, comme le bacille typhique par exemple, jamais on n'obtient un immunsérum plus agglutinant pour le bacille paratyphique que pour un bacille d'Eberth bien agglutinable. Dans les espèces peu homogènes comme le bacille coli, le streptocoque, les sérums obtenus avec une race déterminée, normalement agglutinable, agglutinent toujours cette race homologue au maximum et peuvent même n'avoir aucune action sur une autre race de même espèce. On ne connaît pas d'exception à cette règle. Les observations cliniques sembleraient montrer pour l'agglutination une spécificité moins rigoureuse. Certains auteurs ont même trouvé des sérums de malades agglutinant moins bien un bacille isolé de ce malade qu'une autre espèce bactérienne. Mais le fait de retirer d'un organisme un microbe donné, ne prouve pas qu'il soit le seul germe infectant. Les observations de la clinique, s'appuyant sur

des données souvent incertaines, ne sauraient infirmer la spécificité rigoureuse des récepteurs partiels, nettement établie par l'étude des sérums expérimenrtaux.

§ 6. — AUTRES AGGLUTININES HÉTÉROLOGUES

Nous avons vu que l'essai de CASTELLANI pouvait servir à différencier, dans un sérum, une agglutinine véritable d'une coagglutinine. Certaines causes peuvent cependant fausser cette réaction. Il s'agit en premier lieu des agglutinines normales. Celles-ci ne disparaissent pas lorsque l'agglutinine spécifique est absorbée par la bactérie homologue, et peuvent faire croire à une infection secondaire. D'après POSSELT et SAGASSER (1903), la production d'une agglutinine normale déterminée peut augmenter par suite de l'immunisation contre une espèce bactérienne non homologue, ainsi un sérum où l'agglutinine cholérique normale se manifestait à la dilution de 1/100, montrait après l'immunisation avec du bacille d'EBERTH une agglutination à 1/12.000 pour ce bacille et à 1/4.000 pour le vibrion cholérique. Après absorption de l'agglutinine typhique par le bacille homologue, le titre en agglutinine cholérique ne diminuait pas, au contraire, il augmentait considérablement, ce qui ne saurait s'expliquer que par la disparition d'un corps empêchant.

Selon HEANDEL (1908), HETSCH et LENTZ (1904), il pourrait se former dans l'immunisation par un seul microbe des agglutinines hétérologues ne préexistant pas dans le sérum normal. POSSELT et SAGASSER ont appelé ces agglutinines hétérologues : « *nebenagglutinine* ». Elles ne

disparaissent pas dans l'absorption spécifique par le microbe qui a servi à l'immunisation. Ainsi dans ces différents cas, l'essai de CASTELLANI aurait fait conclure à une infection multiple, tandis que les agglutinines normales ou les « *nebenagglutinine* » ne sont pas dues à une deuxième infection.

Remarquons que ces observations se rencontrent très rarement dans les publications concernant l'agglutination. La généralité des bactériologistes n'ont jamais rencontré de *nebenagglutinine*. GASIAKOWSKI (cité par PALTAUF) ne constata aucune augmentation d'agglutinine normale par l'immunisation ; de plus, l'absorption de l'agglutinine spécifique ne lui montra jamais d'élévation dans le taux de l'agglutination normale. HALLOCK PARK (1900) n'a pu reproduire les expériences de POSSELT et SAGASSER. Il n'a jamais observé que des *cultures pures* d'une espèce donnée provoquent la formation d'agglutinine active contre d'autres bactéries et ne pouvant pas être épuisées par l'espèce employée pour l'immunisation. On peut se demander si les auteurs qui ont signalé l'existence des *nebenagglutinine* partaient bien de cultures pures : l'apparition de ces agglutinines hétérologues pourrait trouver une explication très simple dans l'emploi de cultures impures.

Même en admettrant l'existence de *nebenagglutinine*, nous ne devons pas conclure que le principe de la spécificité absolue soit ébranlé. DIEUDONNÉ (1898) a montré, en effet, qu'une prodution d'agglutinine peut avoir lieu après une longue disparition, par simple injection d'Hétol. De même, VERNEY (1902), puis BIELING (1919), observent qu'une infection ultérieure de nature quelconque peut réveiller la production d'une agglutinine disparue. Ces faits expliqueraient d'une manière satisfaisante la la formation et la nature des *nebenagglutinine* de HEANDEL et de HETSCH et LENTZ.

§ 7. — L'AGGLUTININE NORMALE ET LES COAGGLUTININES DANS LA PRATIQUE DE L'AGGLUTINATION.

Ainsi que nous venons de le voir, le phénomène de l'agglutination ne présente qu'une spécificité relative, car, à côté de l'agglutination spécifique, une coagglutination ou une agglutination normale peuvent apparaître. Il y a lieu par conséquent de prendre un certain nombre de précautions pour ne pas confondre l'agglutination spécifique avec les autres agglutinations secondaires et conserver ainsi au phénomène sa valeur pratique. Nous allons indiquer quels moyens sont requis pour l'identification des bactéries et des sérums, les deux principales applications du phénomène d'agglutination.

Identification des bactéries par les sérums agglutinants

Dans l'identification d'une bactérie, on part d'un sérum connu. La confusion de la coagglutination et de l'agglutination normale avec l'agglutination spécifique n'est pas à redouter, si l'on a soin de partir d'un immunsérum très agglutinant et pouvant, de ce fait, être suffisamment dilué pour perdre toute action coagglutinante. Nous avons vu qu'un sérum de haute valeur agglutinante ne manifestait généralement que des actions coagglutinantes très faibles. Il est préférable de ne pas employer de sérum de malade ou de convalescent à moins qu'on ne l'ait titré et qu'il n'ait pas ou très peu d'actions coagglutinantes

Pour l'identification du bacille typhique, il faut employer un sérum agglutinant au moins à 1/10.000 parce qu'on a rencontré des bacilles coli agglutinés parfois à 1/1.000 par un immunsérum typhique [Sternberg (1900), Busson (1911)].

Lorsque la bactérie à examiner est agglutinée par le sérum près du titre limite, l'identification est facile. Une difficulté peut se présenter lorsque l'agglutination n'a pas lieu à une forte dilution. On peut avoir à faire à une espèce hypoagglutinable ; dans ce cas, il faut essayer de faire réapparaître l'agglutinabilité par les moyens habituels (voir chap. II). On peut également faire l'essai d'absorption de l'agglutinine spécifique par la méthode de Castellani. Si tout le pouvoir agglutinant du sérum disparaît par l'addition répétée de culture du microbe à étudier, c'est que celui-ci est bien le microbe homologue du sérum en expérience. On peut également procéder à l'immunisation d'animaux par la bactérie à étudier, puis identifier l'antisérum obtenu au moyen de bactéries connues et bien agglutinables.

Recherche de l'agglutinine spécifique dans un sérum en partant d'une bactérie connue. — Sérodiagnostic.

L'émulsion bactérienne. — Puisqu'on part d'une bactérie connue, les causes d'erreurs dues à l'inagglutinabilité ne sont pas à redouter ici, si l'on a soin de choisir un échantillon normalement agglutinable (chap. II, § 13).

Il faut naturellement avoir soin de n'employer qu'une culture pure, sous peine d'obtenir des résultats erronés.

Comme certaines espèces bactériennes comprennent différentes races qui peuvent n'avoir aucune action agglutinante les unes pour les autres (ex. : le bacille paratyphique B (Rieux et Sacquépée)) différents auteurs dont Falta et Noggerath ont conseillé, dans ce cas, d'employer des cultures mixtes, c'est-à-dire dérivant de plusieurs races appartenant à l'espèce envisagée.

Hilgermann (1908) considérant que les bacilles d'Eberth suivant leur provenance, fournissent des sérums agglutinant davantage la bactérie homologue que les autres échantillons de même espèce, a proposé l'emploi de cultures mixtes pour le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. Mais Geisse (1908) a montré que cette technique ne donnait pas de résultats sensiblement meilleurs que le procédé ordinaire.

L'agglutination normale et la coagglutination. — Si l'agglutination normale et la coagglutination ne sont pas à redouter dans l'identification des bactéries, au moyen des immunsérums, par contre, les causes d'erreur possibles dues à la présence de ces phénomènes secondaires peuvent être ici des plus importantes. Dans un sérum de malade, le titre agglutinant est souvent peu élevé et ne dépasse pas de beaucoup celui de certaines agglutinations normales, de même la coagglutination s'y manifeste fréquemment et parfois à un taux voisin de l'agglutination spécifique.

Dans les affections typhoïdes, par exemple, on trouve fréquemment une coagglutination pour les bacilles paratyphiques. Manteufel l'observe dans 68% des cas, Korte et Steinberg (1905), Grunberg et Rolly (1905) constatent le même fait dans 70 % des cas ; Abrami (1907), dans 30 % ; Schultz (1909), dans 20 % seulement. Il est vrai que dans beaucoup de ces cas, la coagglutination est peu

élevée et ne dépasse pas l'agglutination rencontrée habituellement dans les sérums normaux.

Pour avoir un résultat certain dans la pratique du sérodiagnostic, il faut d'abord que l'agglutination ait lieu à un taux suffisamment élevé pour qu'on ne puisse pas la confondre avec une agglutination normale. Dans la fièvre typhoïde, pour qu'un sérodiagnostic soit positif, il faut que l'agglutination du bacille d'Eberth ait lieu au moins à la dilution de 1/50 à 1/75 (1) bien que certains sérums incontestablement typhiques ne manifestent qu'une agglutination à un taux inférieur à 1/50 pour le bacille typhique.

Il ne suffit pas que le pouvoir agglutinant du sérum pour un bacille déterminé dépasse le taux de l'agglutination normale pour attribuer d'une façon certaine à ce microbe, la cause de l'infection ; on peut être en présence d'une coagglutination du sérum sur une espèce hétérologue.

Considérons un malade suspect de fièvre typhoïde. Si son sérum agglutine le bacille d'EBERTH à 1/100 par exemple, il y a vraisemblablement infection typhique, mais cependant, il pourrait s'agir d'une coagglutination par l'agglutinine paratyphique A ou B. Il y a lieu, dans ce cas, d'essayer l'agglutination sur les bacilles paratyphiques A et B, espèces voisines susceptibles de fournir

---

(1) Les auteurs ne sont pas tous d'accord sur ce point. WIDAL tenait le sérodiagnostic pour positif lorsque le sérum était agglutinant au 1/10, KREISSL (1904), COLE (1904), RUEDIGER (1904), MESNIL DE ROCHEMONT (1897), exigent que l'agglutination ait lieu à 1/30, HALLOK PARK (1906) au 1/50, DOMBROWSKI (1903), MANTEUFEL (1905), BRUNS et KAYSER (1903), au 1/75, enfin JURGENS (1904), au 1/100.

un sérum exerçant sur le bacille typhique une action coagglutinante.

Si l'on trouve une agglutination du sérum pour deux espèces, on pourra considérer que l'espèce bactérienne la plus agglutinée est l'agent de la maladie (Sachs et Ritz). Cette dernière proposition n'est pas acceptée par tous, du moins en ce qui conserne le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. Certains auteurs considèrent qu'une infection éberthienne pure peut présenter un sérum agglutinant davantage un bacille paratyphique que le bacille d'Eberth. Grunberg et Rolly (1905) qui ont observé 40 infections caractérisées cliniquement et bactériologiquement comme fièvre typhoïde, ont trouvé que, dans 35 % des cas, le sérum des malades agglutinait moins bien le bacille d'Eberth que le bacille paratyphique. Rieux et Sacquépée (1905), Drigalski (1904), Jurgens (1904) ont fait la même observation pour des affections éberthiennes dont le diagnostic fut confirmé à l'autopsie ou par l'hémoculture. Jurgens a observé qu'au début de la maladie et à la convalescence, le taux de l'agglutination du bacille paratyphique, bien que faible, pouvait dépasser légèrement celui du bacille typhique, mais dans le cours de la maladie, lorsque le taux agglutinant du sérum est relativement élevé, l'agglutination est toujours nettement supérieure à la coagglutination. Drigalski trouve que sur 257 sérums de typhiques, 27 agglutinaient « aussi vite et aussi fortement » les bacilles paratyphiques que les bacilles typhiques, et 26 agglutinaient « plus vite et plus fortement » les bacilles paratyphiques que le bacille d'Eberth.

Par contre, les expériences de Korte et Steinberg (1905), sont en opposition avec les données précédentes. Ces auteurs ont toujours observé dans la fièvre typhoïde

caractérisée cliniquement et bactériologiquement, une agglutination plus intense pour le germe infectant que pour les bactéries hétérologues. Ils se sont attachés à déterminer aussi exactement que possible le titre limite de leurs sérums. Pour cela, ils observaient au microscope les préparations après deux heures de séjour à l'étuve à 37° et considéraient la réaction comme positive lorsqu'ils apercevaient des petits amas de cinq à six bacilles. KORTE et STEINBERG reprochent à GRUNBERG et ROLLY de n'avoir pas déterminé le titre limite de leur sérum. Ces expérimentateurs, en effet, ont souvent observé l'émulsion bactérienne après cinq ou dix minutes de contact avec le sérum, ce qui est manifestement insuffisant. Pendant que KORTE et STEINBERG trouvent leurs sérums typhiques agglutinant fréquemment à 1/1.000, 1/2.000, et plus, GRUNBERG et ROLLY n'observent que des sérums ne dépassant pas le taux agglutinant de 1/200, 1/300. Le même reproche peut être adressé à DRIGALSKI, qui se contentait du procédé macroscopique pour l'agglutination de ses sérums. MANTEUFEL (1905), qui a attaché également une grande importance au dosage exact des sérums, confirme KORTE et STEINBERG. Cet auteur a observé 195 cas de fièvre typhoïde, dans lesquels il constatait une agglutination positive pour le bacille d'EBERTH et négative pour les bacilles paratyphiques. Dans 68 % des cas, le sérum agglutinait également les bacilles paratyphiques, mais ceux-ci à un taux toujours notablement inférieur à celui de l'agglutination du bacille d'EBERTH. ZUPNICK et POSNER (1903), KORTE (1903), BRUNS et KAYSER (1903) ont fait des observations analogues.

Les cas d'infection éberthienne où l'on a observé, à l'aide d'une technique irréprochable, l'agglutination sur

le bacille paratyphique plus élevée que sur le bacille d'Eberth, paraissent être fort restreints. Ils ne sauraient prouver, d'ailleurs, que l'agglutination sur les bacilles paratyphique n'est pas due à une infection antérieure passée inaperçue ou à une infection actuelle dont on n'a pu isoler le germe. De plus, les cas où la coagglutination sur un bacille paratyphique dépasse l'agglutination sur le bacille typhique sont généralement observés pour des sérums ne se montrant guère plus agglutinants que les sérums normaux, il est alors difficile de savoir si on n'est pas en présence de deux agglutinines normales. Pour Manteufel, il faut que le sérum soit agglutinant à 1/100 pour qu'il n'y ait pas d'ambiguité.

Il n'est donc pas démontré qu'une infection eberthienne pure puisse présenter une coagglutination supérieure à l'agglutination du bacille typhique. Réciproquement, n'y a-t-il pas des infections non typhiques qui montrent une agglutination plus importante pour le bacille d'Eberth que pour le germe infectant ? D'après Rieux et Sacquépée (1905) les affections paratyphiques A donnent une réaction nettement spécifique pour le microbe homologue. Il en est de même pour les infections dues au bacille paratyphique B. Le sérum se montre agglutinant pour ce bacille à un taux relativement élevé : 1/500, même 1/40.000 (Korte), mais n'a que peu ou pas d'action sur le bacille d'Eberth.

Certains auteurs : Kohler (1903), Zupnick (1902), Ludke (1904), Zivi Vittorio (1904), etc., ont vu, dans des cas d'ictère catharral, le sang des malades agglutiner le bacille typhique. Mais ces cas sont assez rares et, presque toujours, l'agglutination est faible et ne dépasse guère le taux de celle observée avec des sérums normaux. Gilbert et Lipmann (1904), ayant examiné le

sang de trente malades atteints d'ictère, ne l'ont trouvé agglutinant que deux fois seulement pour le bacille typhique. KAMMERER (1904), sur cinquante cas d'ictère, n'a également observé que deux fois une agglutination pour le bacille d'EBERTH et encore à des taux peu élevés, 1/75 et 1/40. Quant à KREISSL (1904), il n'a jamais observé l'agglutination du bacille typhique avec le sang des ictériques. Quant aux quelques cas d'ictère où le sang se montre très agglutinant pour le bacille d'EBERT, SACQUÉPÉE et FRAS (1905), GILBERT et LIPMANN (1904) ont démontré qu'ils étaient dus à une infection d'origine éberthienne.

Bien que la spécificité de l'agglutination dans l'essai des sérums de malades nous apparaisse comme à peu près certaine, il nous semble, comme à la plupart des auteurs, que le sérodiagnostic soit insuffisant à lui seul pour caractériser une infection typhique ou paratyphique. En effet, un sérodiagnostic négatif ne fournit pas une preuve de l'absence du germe recherché. On sait que l'agglutinine peut se montrer tardivement même au cours de la convalescence. D'après GAETHGENS (1907), dans la première semaines de la maladie, la réaction serait positive dans 75 pour 100 des cas ; la deuxième semaine, dans 90 % et la troisième semaine dans 95 %. De plus, un sérodiagnostic positif n'est pas suffisant pour caractériser une dothiénentérie actuelle ; l'agglutination trouvée peut être due à une affection éberthienne antérieure, ignorée ou non. Enfin, la technique de l'agglutination n'étant pas très rigoureuse, et les écarts dans l'appréciation du taux agglutinant d'un sérum pouvant être relativement importants, on peut être embarrassé pour conclure lorsqu'on se trouve en présence d'un sérum agglutinant le bacille typhique et le bacille para-

typhique à des taux voisins. Pour ces différentes raisons, il faut considérer l'agglutination comme un élément de diagnostic à ajouter à d'autres tels que les symptômes cliniques, recherches du bacille dans le sang ou les excreta, etc.

Les infections mixtes. — Lorsqu'on se trouve en présence d'un sérum agglutinant deux espèces microbiennes, l'agglutination la moins élevée n'est pas toujours une coagglutination, il se peut qu'il y ait infection mixte due à deux espèces bactériennes. Pour s'en rendre compte, on peut recourir à l'essai de CASTELLANI. On mélange dans un tube 1 centimètre cube de sérum avec une vingtaine d'anses de culture bactérienne d'une des deux espèces suspectes d'avoir provoqué l'infection, et, dans un autre tube, on procède de même pour la deuxième espèce. Après un séjour à l'étuve de 12 à 24 heures, puis centrifugation, les liquides surnageants sont essayés au point de vue de leur action agglutinante sur les deux espèces. Si une espèce a fait disparaître tout le pouvoir agglutinant, c'est elle qui est cause de l'infection ; si, au contraire, une partie seulement du pouvoir agglutinant est disparue dans chacun des deux tubes, il y a vraisemblablement infection multiple. Nous avons vu cependant (§ 6) que, suivant certains auteurs, la réaction de CASTELLANI pouvait, dans certains cas très rares, donner des conclusions fausses. Elle ne pourrait donc avoir, elle aussi, dans le diagnostic, qu'un rôle complémentaire.

RÉSUMÉ DU CHAPITRE V

Les sérums normaux sont capables d'agglutiner les bactéries, mais à un taux relativement faible. Les substances agglutinantes des sérums normaux ne semblent pas être différentes de celles des antisérums ; elles possèdent la même spécificité ainsi que les mêmes caractères physiques et chimiques. La production des agglutinines normales semble être due au parasitisme des microbes.

Les sérums spécifiques, outre leur action sur le microbe homologue, coagglutinent aussi, fréquemment des espèces hétérologues, mais l'agglutination spécifique est toujours supérieure à la coagglutination.

Les actions coagglutinantes d'un sérum varient avec l'antigène, avec le taux du sérum et avec la nature des animaux producteurs d'agglutinine.

La substance agglutinogène d'un bactérie est formée de récepteurs partiels qui déterminent chacun la production d'une agglutinine partielle correspondante, douée d'une spécificité rigoureuse. Ce sont les agglutinines partielles communes à deux espèces qui déterminent la coagglutination.

Ainsi que l'a montré CASTELLANI, un sérum mis au montact de son microbe homologue perd toutes ses actions agglutinantes et coagglutinantes ; un sérum mis en présence d'un microbe hétérologue qui est coagglutiné perd seulement son action coagglutinante pour ce microbe.

CHAPITRE VI

L'ANTICORPS

(Suite)

NATURE DE L'AGGLUTININE

§ 1. — PROPRIÉTÉS PHYSIQUES ET CHIMIQUES DE L'AGGLUTININE

Comme les autres anticorps, les agglutinines n'ont pas encore été isolées à l'état pur. Il est par conséquent difficile de connaître leur nature chimique et les proportions de leurs composants. Les agglutinines sont fixées aux albumines contenues dans les humeurs de l'organisme et notamment à la sérumglobuline dont elles partagent les différents caractères de précipitabilité. Quand on sature un sérum par le sulfate de magnésie, on précipite la globuline, qui entraîne avec elle l'agglutinine. Si on redissout cette globuline dans de l'eau alca-

linisée, on s'aperçoit que la liqueur obtenue est agglutinante. Il n'est pas possible non plus de séparer par la dialyse l'agglutinine de la globuline.

Les propriétés physiques et chimiques des agglutinines sont naturellement mal connues, puisque nous ne pouvons les apercevoir qu'au travers de celles de la globuline. La coagulation de celle-ci à 68° fait disparaître le pouvoir agglutinant. Même quand les particules coagulées ne sont pas encore visibles à l'œil nu, le sérum n'est plus agglutinant. D'autre part, si l'on retarde la coagulation du sang jusqu'à 75° ou 80° par addition d'urée ou de toute autre substance anticoagulante, on retarde d'autant la disparition de l'agglutinine du sérum.

Les agglutinines sont précipitables par le sulfate de magnésie et le sulfate d'ammoniaque, presque complètement par le sulfate de soude et le nitrate de potasse. Le chlorure de sodium, le chlorure de potassium les précipitent mal.

Les agglutinines sont à peine dialysables. Elles résistent aux ferments trypsiques et pepsiques, à la papaïne pendant ving-quatre heures. Une digestion plus longue par la trypsine les diminue ; après cinq jours, elles sont totalement détruites. Par contact avec des cultures de bacilles non homologues, elles ne sont pas diminuées quantitativement, même après un temps assez long (15 jours). D'après Baroni et Jonesco (1910), elles résistent aux rayons ultra-violets d'une lampe de quartz.

Cette communauté de sort et de propriétés de l'agglutinine et de la globuline a conduit quelques auteurs à les identifier. Selon Asakawa (1904), l'agglutinine n'est autre que la globuline des animaux immunisés.

qui aurait seulement acquis certaines propriétés du fait de l'immunisation. Cet auteur appuie son hypothèse sur l'observation suivante : lorsqu'on filtre sur papier un mélange de globuline typhique obtenue par dialyse et d'une émulsion de bacilles d'Eberth, on retient l'agglutinine et la plus grande partie de la globuline. Cette manière de voir est arbitraire, on n'a pas le droit de négliger systématiquement l'excès de globuline non agglutinante qui a filtré. D'après la plupart des auteurs, au contraire, la globuline existe dans les sérums en quantité bien plus considérable que l'agglutinine. Si on fait digérer des bactéries dans leur sérum homologue, elles enlèvent par centrifugation toute l'agglutinine, tandis que la globuline demeure en grande quantité dans le liquide décanté. L'agglutinine est peut-être formée aux dépens de la globuline, mais toute la globuline d'un immunsérum n'est certainement pas agglutinante.

Nous avons dit que l'agglutinine était fixée sur la globuline. En réalité, cest sur l'*euglobuline* que Pick l'a rencontrée habituellement. Cet auteur n'a trouvé que l'agglutinine typhique de cheval fixée sur la *pseudo-globuline* (1). Par contre, les données de Banzhof et

(1) On sait que lorsqu'on ajoute à un sérum une solution saturée de sulfate d'ammoniaque de telle sorte que 10 cc. du mélange obtenu renferment 3 à 3.4 cc. de cette solution saturée, on précipite *l'euglobuline*. Si après filtration on porte la teneur du liquide en sulfate d'ammoniaque de 3.4 cc. à 4.6 cc., on précipite la *pseudo-globuline*. Ainsi les deux fractions de la globuline ne se différencient l'une de l'autre que par leur solubilité dans le sulfate d'ammoniaque. Ce caractère étant insuffisant pour permettre de les considérer comme deux entités chimiques différentes, leur contenu en agglutinine ne saurait nous renseigner d'une façon importante sur la nature de cet anticorps.

Gibson (1908) sont assez différentes. D'après ces expérimentateurs, dans le sérum de lapin et de chèvre, les agglutinines du bacille coli, des bacilles dysentériques, typhiques, du vibrion cholérique seraient contenues dans les deux fractions de la globuline, mais principalement dans la *pseudoglobuline*. Dans le sérum du cheval, les agglutinines dysentériques et coli se partageraient également entre les deux globulines ; quant aux agglutinines cholériques et typhiques, elles ne seraient pas entièrement contenues dans la *pseudoglobuline*, bien que l'*euglobuline* n'en renferme pas. Widal et Sicard (1897) constatent que le fibrinogène retient également l'agglutinine. De plus, dans le lait, il semble qu'elle soit fixée sur la caséine. Or, ces différentes albumines se distinguent les unes des autres par des différences de solubilité dans les milieux salins. Les agglutinines, suivant qu'elles sont fixées à l'une ou à l'autre de ces albumines ont des caractères de précipitabilité différents. Mais il ne s'ensuit pas qu'il soit nécessaire de distinguer plusieurs sortes d'agglutinines. Comme l'enseignait déjà Duclaux, la précipitation d'une albumine par un liquide peut varier suivant l'état de division de cette albumine et suivant d'autres conditions physiques sans témoigner d'un changement de composition chimique.

Quoi qu'il en soit, les agglutinines sont fixées sur les albumines des humeurs de l'organisme, sans qu'il soit possible de les en séparer. Toutes les albumines des divers liquides de l'organisme ne contiennent pas une même quantité d'agglutinine. Certaines peuvent en être dépourvues. La sérine, notamment, n'en contient pas ; l'albumine urinaire peut n'être pas agglutinante.

Lorsqu'on filtre sur bougie un liquide agglutinant de l'organisme, le filtrat a perdu non seulement une partie

de son agglutinine, mais aussi de l'albumine que la bougie a retenue. En somme, on trouve toujours des albumines dans un liquide contenant de l'agglutinine, mais jamais d'agglutinine dans un liquide dépourvu d'albumine (WIDAL et SICARD). Suivant STAÜBLI et HŒSSLIN (1906), l'urine non albumineuse ne contient jamais d'agglutinine (voir Ch. IV, §12).

Etant donné les différentes propriétés des agglutinines, on peut admettre avec beaucoup de vraisemblance qu'elles peuvent être considérées comme des matières albuminoïdes.

Un sérum agglutinant possède-t-il des caractères physiques et chimiques qui le diffèrencient d'un sérum normal ? Il semble bien que non. BELJAEFF (1903) n'a vu aucune différence entre eux dans les constantes physiques : indice de réfraction, point de congélation, densité, etc. La composition chimique d'un immunsérum paraît être la même que celle d'un sérum normal ; tous deux auraient même teneur en albuminoïde, même alcalinité, etc. JOACHIM (1902) aurait trouvé cependant dans les immunsérums une augmentation d'euglobuline mais pas de changement dans la somme des albuminoïres. A. VERNER et ISMAÏLOVA (1903) ont cru remarquer qu'un sérum agglutinant était plus riche en fer qu'un sérum normal, et ils en déduisaient que le fer est nécessaire à l'agglutination. Vingt animaux typhiques fournissaient à ces auteurs un sérum qui, par calcination, donnait des cendres riches en fer. Ces cendres, reprises par l'eau, produisaient une solution saline assez agglutinante. Dix-huit animaux normaux fournissaient un sérum peu riche en fer. Il ne faut voir dans ce phénomène qu'une agglutination chimique analogue à celle observée par MALVOZ pour différents sels. Cette abon-

dance de fer dans le sérum des animaux atteints de fièvre typhoïde doit être attribuée à la destruction abondante des globules rouges au cours de la maladie, mais ne paraît pas être en relation causale avec le pouvoir agglutinant.

Etant donné l'impossibilité où l'on est de séparer les agglutinines des albumines des humeurs et, d'autre part, la ressemblance physique et chimique d'un immunsérum et d'un sérum normal, certains bactériologistes ont mis en doute l'existence des agglutinines et des anticorps en général, en tant qu'entités chimiques. Selon eux, il n'y aurait pas ici union physique ou chimique de deux corps, l'antigène et l'anticorps, mais seulement rupture de l'équilibre des forces existant dans l'émulsion bactérienne. Cette rupture d'équilibre serait due à une énergie spéciale acquise par le sérum pendant l'immunisation ou l'infection. Cette manière de concevoir les agglutinines comme énergie et non comme matière ne saurait être retenue. On ne peut expliquer le phénomène de l'agglutination d'une manière satisfaisante que par l'union de deux substances. On constate bien la disparition d'une partie des albumines d'un sérum qui a agglutiné, ce qui a même permis à certains auteurs de tenter des dosages d'agglutinine par mesure de la quantité d'albumine restante. Mais Pick a montré (ch. III, § 2) que la substance agglutinable à l'état pur n'est pas une albumine véritable, puisqu'elle n'en donne pas les principales réactions. Or, cette substance agglutinable précipitée par son immunsérum recueillie et, après lavages, redissoute dans l'eau alcalinisée, donne les réactions des albumines vraies. La substance agglutinable de Pick n'a donc pas été simplement coagulée par l'action d'une force existant dans le sérum, mais elle a fixé une subs-

tance albuminoïde. Enfin, si l'on prend des bacilles agglutinés et lavés, on peut par agitation dans de l'eau légèrement alcalinisée réaliser la séparation d'une partie de l'agglutinine qui se répand dans le liquide ; celui-ci donne alors les réactions des albuminoïdes. Aussi, il semble bien qu'il faille considérer les agglutinines, non pas comme une modalité nouvelle de l'énergie, mais bien comme des entités chimiques, comme des corps capables de s'unir avec les microbes.

§ 2. — INFLUENCE DES AGENTS PHYSIQUES ET CHIMIQUES SUR L'AGGLUTININE

a) Action de la chaleur

L'agglutinine typhique chauffée à 63° et au delà, jusqu'au point de coagulation du sérum, devient en partie inactive. Pour étudier l'influence de la température sur l'agglutinine au delà de cette limite, il faut se servir de liquides agglutinants non coagulables par la chaleur. Le lait est le liquide qui remplit ces conditions. Widal et Sicard (1897) ont vu qu'un lait de chèvre immunisé contre le bacille d'Eberth et agglutinant à 1 pour 400, perdait progressivement son pouvoir agglutinant par le chauffage à 66° et au-dessus. Après 10 minutes à 75°, il n'agglutinait plus du tout. Mais l'agglutinine, d'après Eisenberg et Volk (1902), Wasserman (1903) n'est cependant pas détruite à cette température, car elle peut encore être fixée en même quantité par les bacilles typhi-

ques qui perdent alors la propriété d'être agglutinés par un sérum non chauffé (1).

D'autres agglutinines sont plus sensibles à l'action de la chaleur. D'après KOLLE (1906), ROMBERG (1901), l'agglutinine pesteuse et l'agglutinine tuberculeuse deviennent inactives par le chauffage à 56° NICOLLE et HALIPRE (1896), HAYEM (1897) trouvent que le chauffage à 60° de l'agglutinine typhique lui laisse intégralement ses propriétés.

b) Action des acides, des alcalis, du vieillissement

La chaleur n'est pas le seul agent qui puisse transformer l'agglutinine en une substance se fixant encore sur les bactéries, mais sans les agglutiner.

EISENBERG et VOLK (1902) ont établi que les acides et les alcalis, le vieillissement (plusieurs années) diminuaient, comme le chauffage à 65°, le pouvoir agglutinant d'un sérum, parfois de moitié, et rendaient incomplète, de ce fait, l'agglutination en dilution étendue. En ce qui concerne l'action du temps, SACHSMAUCKE (1909) confirme EISENBERG et VOLK, et observe qu'un sérum conservé pendant quarante-cinq jours à l'obscurité ou

(1) STRENG (1909) confirme EISENBERG et VOLK et trouve qu'un sérum typhique chauffé perd une partie de son activité. La perte en agglutinine commence à 60° et s'accentue lorsqu'on élève la température. Mais la diminution du pouvoir agglutinant à une température donnée peut varier d'un sérum typhique à un autre. Cette constatation est pour STRENG un argument en faveur de l'existence dans un même sérum d'agglutinines partielles douées de thermostabilité différente.

dans la glacière possède encore toute son agglutinine, mais qu'un temps plus long affaiblit ses propriétés agglutinantes.

Les sérums soumis à l'action de ces différents agents perdent non seulement une partie de leurs propriétés agglutinantes, mais ils sont dépourvus en outre de toute action précipitante en forte concentration, ils présentent des « *zones d'empêchements* » ou des « *zones d'inhibition* ». Ce phénomène est connu sous le nom de phénomène paradoxal. Ainsi, un immunsérum typhique de cheval, du titre 1/45.000 additionné de son volume d'acide chlorhydrique 1/4 normal, a donné à EISENBERG et VOLK, après 24 heures, les résultats suivants :

Tableau XV d'EISENBERG et VOLK

1/10	aucune agglutination
1/1.000	agglutination complète
1/5.000	agglutination presque complète
1/10.000 - 1/20.000	agglutination incomplète

L'action de la chaleur, des acides, des alcalis et du vieillissement sur un sérum détermine donc deux phénomènes disctincts :

1° Une diminution de pouvoir agglutinant ;

2° Un empêchement absolu de l'agglutination en forte concentration du sérum,

§ 3. — STRUCTURE DE L'AGGLUTININE

Théorie d'ASAKAWA

Plusieurs théories ont été émises pour expliquer la formation, la structure et l'action des agglutinines. Nous signalons pour mémoire la théorie trop simpliste d'Asakawa. Pour cet auteur, les récepteurs A de certaines cellules des tissus possèdent une affinité pour la substance agglutinable B des bactéries. L'union A-B détermine, suivant la loi de l'hyper-régénération de Weigert, la surproduction des récepteurs A qui se répandent dans le sang et s'unissent à la partie G dé la globuline. Ainsi A-G est l'agglutinine. A, comme récepteur de la cellule, s'unit au récepteur B de la bactérie pour donner B-A-G, ce qui produit l'agglutination.

Ce simple schéma est celui de l'action d'"un récepteur de *premier ordre* dans la théorie d'Ehrlich. Asakawa ne fait guère que donner des noms aux phases présumées de l'agglutination, mais ne fournit pas une explication scientifique du phénomène, puisque sa théorie ne rend compte d'aucune des propriétés des agglutinines.

Théorie d'EISENBERG et VOLK

Pour expliquer la double action de la chaleur et des acides. Eisenberg et Volk (1902) ont imaginé, en conformité avec la théorie d'Ehrlich de considérer les agglutinines comme des récepteurs de *deuxième ordre*, c'est-à-dire possédant un groupe *haptophore* et un groupe *agglutinophore*. Le premier réaliserait la fixation de l'agglutinine, il est *termostabile*, c'est-à-dire résistant

au chauffage à 65° et au delà ; le second déterminerait la sédimentation et se détruirait à 65° ou par les acides, les alcalis, etc. L'agglutinine ainsi altérée, dont le groupe agglutinophore est détruit, a été désigné par EISENBERG et VOLK sous le nom d'*agglutinoïde*. La conception de l'agglutinoïde nous semble nécessaire pour expliquer que l'absorption d'agglutinine continue à se produire, malgré l'absence ou la diminution de la précipitation (1). Mais est-elle suffisante pour expliquer également le phénomène paradoxal ? Il faut, d'après EISENBERG et VOLK, attribuer à l'agglutinoïde une plus grande affinité pour les bactéries que l'agglutinine véritable, de sorte que la fixation de l'agglutinoïde aurait lieu avant celle de l'agglutinine. Si le sérum chauffé et contenant de l'agglutinoïde est suffisamment dilué, l'agglutinoïde se trouvera en quantité insuffisante pour saturer les microbes qui peuvent encore fixer l'agglutinine, ce qui détermine la sédimentation. Si, au contraire, le sérum est très concentré, il contient une grande quantité d'agglutinoïde qui sature les microbes, de sorte qu'ils ne peuvent plus absorber d'agglutinine, d'où absence de sédimentation. En somme, ce serait le manque d'absorption d'agglutinine du à la saturation des microbes par l'agglutinoïde qui déterminerait l'empêchement en sérum concentré. Mais les faits ne confirment pas cette hypothèse. Si nous con-

(1) Nous n'avons pas admis comme JOOS (voir chap. III, § 2), tout au moins en ce qui concerne les bacilles typhiques, l'existence de deux agglutinines typhiques différentes, l'une qui serait thermostabile et l'autre thermolabile à 65°. S'il y avait réellement disparition d'une agglutinine β, il devrait s'ensuivre une diminution dans la fixation par les bactéries dans les sérums chauffés, ce qui est contraire aux résultats des expériences d'EISENBERG et VOLK (1902) et WASSERMANN (1903).

sultons en effet les tableaux d'Eisenberg et Volk, (tableau XX) nous constaterons, au contraire, que dans un sérum chauffé il y a bien absorption d'agglutine active, puisqu'après décantation le sérum a perdu de son pouvoir agglutinant. Ce n'est donc pas le manque d'absorption de l'agglutinine qui est cause de l'empêchement. Même en admettant que l'agglutinoïde possède une affinité plus grande pour les microbes que l'agglutinine active, cette affinité n'est pas telle qu'elle empêche complètement la fixation de celle-ci. Cette plus grande affinité de l'agglutinoïde, en admettant qu'elle existe, n'est donc pas capable d'expliquer seule l'empêchement constaté en sérum concentré.

Pour que l'agglutinoïde puisse provoquer le phénomène de l'empêchement, il faut lui attribuer non seulement une affinité plus grande que celle de l'agglutinine, mais supposer également qu'elle transforme l'émulsion dans le sens d'une plus grande stabilité. En sérum concentré, l'agglutinoïde ayant plus d'affinité serait absorbée la première et proportionnellement en plus grande quantité, ainsi la stabilité de l'émulsion serait renforcée. En sérum dilué au contraire, il y aurait absorption d'une quantité d'agglutinoïde relativement plus faible par rapport à l'agglutinine absorbée de sorte que l'agglutinine pourrait exercer plus facilement son effet précipitant. Comme on le voit, pour expliquer le phénomène paradoxal par l'effet de l'agglutinoïde, il faut avoir recours à deux hypothèses aussi peu vérifiées l'une que l'autre : plus grande affinité de l'agglutinoïde et pouvoir stabilisateur de cette substance.

Enfin, une dernière hypothèse peut être envisagée pour expliquer « *la zône d'empêchement* » qu'on observe dans les sérums chauffés et acidifiés. On peut attribuer l'ab-

sence d'agglutination visible à la formation de corps s'opposant à la réunion en amas des microbes chargés d'agglutinine. Nous avons vu (ch. II) que PORGES avait démontré l'existence de corps empêchants dans les bactéries chauffées. Par analogie avec ce qui se passe dans les émulsions bactériennes, on peut supposer que des corps empêchants se forment également dans les sérums chauffés ou acidifiés (probablement au dépens des substances albuminoïdes). En faveur d'un changement dans le sens d'une plus grande stabilité, survenu dans un sérum chauffé, on peut citer l'observation de PORGES, d'après laquelle une suspension de mastic qui est précipitée par un sérum non chauffé, ne l'est plus par le même sérum porté à 75°. A signaler également, en faveur de l'hypothèse des corps empêchants formés dans un sérum, l'expérience suivante d'EISENBERG et VOLK : si à un un mélange de sérum agglutinant et d'émulsion bactérienne correspondante, on ajoute, au commencement de l'agglutination, un sérum chauffé et concentré, on arrête la floconnisation. Il semble qu'en ajoutant le sérum chauffé, on ait ajouté un corps empêchant (1).

---

(1) Pour vérifier l'existence des corps empêchants dans un sérum chauffé ou acidifié, il faudrait réaliser l'expérience suivante qui serait décisive, mais qui, à notre connaissance, n'a pas été faite : mettre en contact des microbes avec leur antisérum concentré et chauffé, centrifuger, laver les bactéries et les émulsionner ensuite dans de l'eau physiologique. Si les bactéries s'agglutinent par la simple action du chlorure de sodium, c'est que le sérum exerçait une action stabilisante et, qu'en enlevant le sérum surnageant, on a éliminé des substances empêchant l'agglutination. Si l'agglutination n'a pas lieu, c'est qu'il n'existait pas dans le sérum de corps empêchants. L'absence d'agglutination serait alors vraisemblablement causée par une plus grande stabilité de l'émulsion due à l'agglutinoïde lui-même.

Théorie de BAIL

Bail (1909), ayant chauffé à 70° un sérum concentré à 1/10, puis l'ayant mis en contact avec des bacilles typhiques pendant 2 heures à 38°, constata une absence complète d'agglutination, mais celle-ci réapparut par l'addition de sérum frais ou d'extrait péritonéal de cobaye. Bail pensait que les agglutinines devaient être considérées ainsi que les sensibilisatrices comme des récepteurs de *troisième ordre*, et qu'elles avaient besoin d'un complément pour être actives. En réalité, il ne saurait être question de l'alexine qui est détruite à 56° alors que le sérum de cobaye peut être chauffé à 75° et même à 95°, sans perdre cette propriété de ramener l'agglutination disparue. De plus, ce phénomène n'est pas général, il n'est observable que sur quelques sérums seulement. D'autre part, Shibayama et Ovada (1906) ont réussi, mais uniquement avec du sérum de lapin, à faire disparaître le phénomène paradoxal d'un sérum modifié par le chauffage sans toutefois ramener l'agglutination à son taux primitif. Ce sérum de lapin ne *réactive* donc pas l'agglutinoïde, il n'a d'action que contre l'empêchement en solution concentrée, soit en neutralisant l'effet des corps empêchants, si on admet leur existece, soit en *déviant* l'agglutinoïde, si on attribue à cette substance la cause de l'empêchement. La théorie de Bail n'est pas généralement admise, car il ne semble pas qu'on soit dans les cas spéciaux qu'il a signalé en présence d'une véritable *réactivation* analogue à celle des sensibilisatrices.

§ 4. — EMPÊCHEMENT DANS UN SÉRUM FRAIS

L'empêchement à l'action de l'agglutinine, en sérum concentré, ne se constate pas seulement dans les sérums chauffés, acidifiés, alcalinisés, vieillis, formolés, etc... Volk et de Waele (1902) Lipstein (1902), Grunbaum (1903), de Blasi et Berardini (1903) Ceritto (1904) Korte et Steinberg (1905) etc., l'ont également rencontré dans certains sérums frais. Ils ont pu voir qu'un sérum typhique frais peut ne pas être agglutinant au taux de 1/50, 1/75 par exemple, et le devenir à des dilutions supérieures. Scheller (1904) a constaté qu'un sérum fraîchement retiré de l'animal pouvait être notablement moins agglutinant que le même sérum quelques jours après son extraction. Cette différence peut aller du simple au double.

La cause de l'empêchement en sérum frais est différente de celle de l'empêchement dans les sérums chauffés ou acidifiés. En effet, dans un sérum frais, l'empêchement disparaît spontanément après un jour ou deux ou par le chauffage à 56° [Scheller (1904)] ce qui n'a pas lieu avec les sérums contenant de l'agglutinoïde.

A quoi attribuer le phénomène paradoxal constaté dans le sérum frais ? Nous avons dit (ch. I § 7) que l'agglutination ne semble pas se produire *in vivo*, et qu'il se pourrait que l'agglutinine ne se forme qu'en dehors de l'organisme, par transformation d'une pro-agglutinine existant dans le sang circulant. On pourrait admettre que dans le cas des sérums frais présentant le phénomène paradoxal, cette transformation n'ait pas lieu en sérum concentré, et se fasse seulement par la dilution, ou après un

ou deux jours. Mais c'est une hypothèse qui ne s'appuie sur aucun fait concret.

On a pensé aussi qu'il pouvait se trouver dans le sérum frais ,un corps empêchant la floconnisation. Certains auteurs croient que ce corps empêchant ne serait autre que l'alexine. Plusieurs données permettent en effet cette supposition :

1° La disparition immédiate de l'empêchement après chauffage à 56° qui détruit également l'alexine. Dans un cas, SCHELLER a vu un sérum qui agglutinait aussitôt après la saignée à 1/2.560 devenir agglutinant à 1/5.120 après avoir été chauffé une heure à 50° puis une demi-heure à 55°.

2° La disparition de cet empêchement dans un sérum non chauffé après plusieurs jours. On sait que l'alexine se détruit spontanément avec une grande rapidité.

3° L'absence d'agglutination dans un milieu riche en sensibilisatrices et en complément, c'est ainsi que dans le phénomène de PFEIFFER, où l'on constate une bactériolyse si intense, on voit à peine l'agglutination se produire. (SALIMBÉNI) Il se peut donc que la présence d'alexine soit cause du phénomène paradoxal dans les sérums frais.

§ 5. — EXISTE-T-IL DES ANTIAGGLUTININES ?

Nous avons vu (chap. IV) que l'agglutinine passive, c'est-à-dire celle introduite dans un organisme, ne s'y retrouve plus quelques jours après l'inoculation. On s'est demandé si cette disparition rapide n'était pas due à la neutralisation de l'agglutinine par une *substance anti* pro-

duite par l'organisme inoculé. WASSERMANN a injecté à des chèvres du sang de lapin normal et de lapins immunisés contre le bacille pyocyanique. Le sérum obtenu précipitait le sang de lapin mais ne faisait pas disparaître trace d'agglutinine. On ne saurait donc admettre l'existence d'*antiagglutinines* bactériennes. Par contre, il est possible d'obtenir des *antihémagglutinines* (BORDET, WASSERMAN), en soumettant des poules à des inoculations d'un sérum agglutinant les érythrocytes de ces oiseaux. Le sang des poules ainsi traitées empêche l'agglutination des hématies par le sérum injecté.

RÉSUMÉ DU CHAPITRE VI

L'agglutinine n'ayant pas été isolée à l'état pur, il est difficile de préciser sa nature et ses propriétés physiques et chimiques. On sait seulement qu'elle est fixée aux albumines des humeurs dont elle partage les différents caractères de précipitabilité, et on la considère généralement comme une substance albuminoïde. Eisenberg et Volk admettent que les agglutinines possèdent un groupe *haptophore* réalisant la fixation de l'agglutinine sur la substance agglutinable et un groupe *agglutinophore* déterminant la floconnisation. La chaleur, les acides et certains autres agents peuvent détruire le groupe *agglutinophore ;* l'agglutinine est ainsi transformée en *agglutinoïde* qui se fixe sur les microbes mais sans les agglutiner. Un sérum chauffffé à 65° et qui contient de ce fait de l'agglutinine et de l'agglutinoïde perd, non seulement une partie de son pouvoir agglutinant mais il devient complètement inactif en forte concentration. Certains sérums frais peuvent également se montrer moins actifs en forte concentration qu'en dilutions plus étendues.

CHAPITRE VII

ACTION DE L'ANTICORPS SUR L'ANTIGÈNE

§ 1. — RAPPORTS QUANTITATIFS D'UNION DE L'AGGLUTININE ET DE LA SUBSTANCE AGGLUTINABLE.

Pour pouvoir déterminer la nature de l'union spécifique de l'agglutinine et de la substance agglutinable, il importe tout d'abord de connaître les proportions dans lesquelles s'unissent ces deux corps. Plusieurs auteurs ont étudié cette question, notamment Eisenberg et Volk (1902), Eisler et Tsuru (1910), Dreyer et Douglas (1910), Karwacki et Benni (1906), etc. Les deux premiers expérimentateurs ont procédé à des essais systématiques très complets et très intéressants que nous allons résumer.

Recherches d'EISENBERG et VOLK (1902)

Pour déterminer la quantité d'agglutinine que peut absorber une quantité donnée de substance agglutinable, Eisenberg et Volk mettaient en contact des concentrations croissantes de sérum avec une quantité fixe d'une même émulsion bactérienne puis, recherchaient, après centrifugation, à quel taux le sérum surnageant les bactéries était encore agglutinant.

Le rapport entre le contenu du sérum en agglutinine après et avant absorption par les bactéries, donnait le *coefficient d'absorption*.

Comme unité de substance agglutinable, les auteurs convinrent d'adopter 1 centimètre cube d'une émulsion de bacilles typhiques préparée comme suit : le produit de râclage d'un tube de culture sur gélose est émulsioné dans 30 centimètres cubes de sérum physiologique.

Pour que ce type d'émulsion demeure toujours identique à lui-même, les auteurs emploient une dizaine de tubes de culture dont ils émulsionnent le contenu dans 150 centimètres cubes de sérum physiologique. A un centimètre cube de cette émulsion, ils ajoutent 1 centimètre cube de sérum spécifique.

L'unité d'agglutinine est définie la quantité de cet anticorps, juste suffisante pour amener dans les 24 heures l'agglutination incomplète d'une unité de substance agglutinable. Des sérums agglutinant à 1/10, 1/100, 1/1000 contiennent donc par définition 10, 100, 1.000 unités d'agglutinine par centimètre cube.

Les essais de mensuration furent faits sur le sérum du cheval « Zroastre » immunisé contre le bacille d'Eberth. 3 saignées pratiquées à différents stades de l'immunisation fournirent 3 sérums agglutinant respectivement à 1 5.000. 1/20.000, 1/45.000, c'est-à-dire contenant 15.000, 20.000, 45.00 unités d'agglutinine par centimètre cube. Les essais d'absorption faits avec ces trois sérums, donnèrent des résultats à peu près identiques, ainsi qu'il résulte de l'examen des tableaux, ci-après. Jusqu'aux dilutions de 1/500, 1/600 l'agglutinine est complètement absorbée : au-delà il y a un excédent d'agglutinine.

L'absorption continue à augmenter avec la concentration du sérum, mais pas en proportion simple avec l'élévation du taux du sérum car le coefficient d'absorption diminue.

Tableau I d'EISENBERG et VOLK

1° Sérum de « Zoroastre ». — Unités d'agglutinine 20.000

Dilutions de sérum	Unités d'agglutinine correspondantes	Absorption absolue	Coefficient d'absorption
1/10.000	2	2	20/20
1/1.000	20	20	20/20
1/500	40	40	20/20
1/300	67	67	20/20
1/100	200	180	18/20
1/50	400	340	17/20
1/10	2 000	1.500	15/20
1/2	10.000	6 500	13/20
1/1	20.000	11.000	11/20

Tableau II d'EISENBERG et VOLK

2° Sérum de « Zoroastre ». — Unités d'agglutinine 15.000

Dilutions de sérum	Unités d'agglutinine correspondantes	Absorption absolue	Coefficient d'absorption
1/5.000	3	3	20/20
1/500	30	30	20/20
1/150	100	93	18,5/20
1/50	300	276	18,5/20
1/5	3.000	2 000	13/20
1/1	15.000	8.000	11/20

Tableau III d'EISENBERG et VOLK

3° Sérum de « Zoroastre ». — Unités d'agglutinine 45.000

Dilutions de sérum	Unités d'agglutinine correspondantes	Absorption absolue	Coefficient d'absorption
1/20.000	2	2	20/20
1/2.000	22	22	20/20
1/1.000	45	45	20/20
1/600	75	75	20/20
1/500	90	89	Ca 20/20
1/200	225	210	19/20
1/100	450	400	18/20
1/20	2 250	1 650	15/20
1/4	11.250	6 750	12/20
1/2	22.500	12 500	11/20
1/1	45 000	22.500	10/20

Il ressort de l'examen de ces tableaux que les bactéries peuvent absorber une bien plus grande quantité d'agglutinine que celle nécessaire à leur agglutination. Une unité d'agglutinine suffit pour provoquer l'agglutination de ces bactéries et nous les voyons en absorber jusqu'à 22.500.

Il est probable, *à priori*, que ce n'est pas là le chiffre maximum d'unités d'agglutinine que ces bactéries peuvent absorber. Si l'on expérimentait avec un sérum plus agglutinant, peut-être absorberaient-elles encore de l'agglutinine. Pour avoir confirmation de cette hypothèse, EISENBERG et VOLK ont mis ces bactéries agglutinées et centrifugées, au contact d'une nouvelle quantité de sérum spécifique.

Ils constatèrent qu'elles absorbaient encore une certaine quantité d'agglutinine, mais moindre que celle fixée par des bactéries neuves, placées dans le même sérum. Cette nouvelle absorption croissait avec la concentration du nouveau sérum. Placées dans une dilution de sérum trop étendue, non seulement les bactéries chargées d'agglutinine n'en absorbaient plus, mais elles pouvaient en céder au milieu.

L'absorption étant d'autant plus élevée qu'il existe une plus grande quantité d'agglutinine en présence d'une quantité fixe de substance agglutinable, il en résulte que non seulement la concentration de sérum est importante, mais aussi celle de l'émulsion bactérienne. Considérons une dilution de sérum constante et faisons varier la densité de l'émulsion bactérienne. Pour une quantité double ou triple de bactéries, nous ne devrons pas avoir une absorption double ou triple d'agglutinine. En effet, comme chaque unité de substance agglutinable se trouvera en présence d'une quantité deux ou trois fois moindre d'agglutinine, l'absorption devra avoir lieu comme celle de l'émulsion primitive en présence d'un sérum deux ou trois fois plus dilué; l'absorption absolue devra diminuer et le coefficient d'absorption augmenter. C'est ce que Eisenberg et Volk purent vérifier. Réciproquement, si l'on emploie une émulsion de bactéries cinq fois plus faible, par exemple, que l'émulsion primitive, on aura en présence d'une même quantité de substance agglutinable cinq fois plus d'agglutinine. Tout se passera comme si à l'émulsion primitive, on avait ajouté du sérum cinq fois plus concentré. L'absorption absolue sera augmentée, tandis que le coefficient d'absorption sera diminué. C'est ce qui résulte des expériences d'Eisenberg et Volk.

Voici leur tableau IX :

Tableau IX d'EISENBERG et VOLK

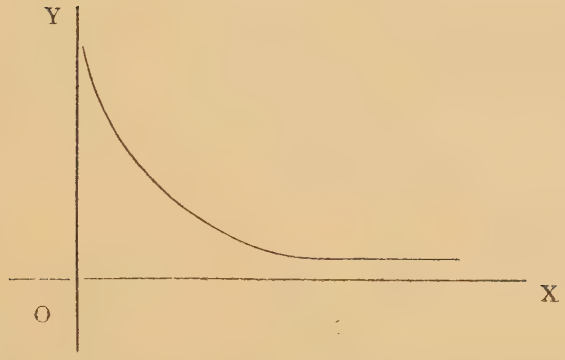
3e Sérum de « Zoroastre ». — Emulsion 5 fois plus faible

Dilutions de sérum	Unités d'agglutinine correspondantes	Absorption absolue	Coefficient d'absorption	Dilution de sérum correspondant à l'émulsion normale
1/3.000	15	15	20/20	1/600
1/1.000	45	44	19.5/20	1/200
1/600	75	67	18/20	1/100
1/100	450	330	15/20	1/20
1/10	4.500	2.500	11/20	1/10

Courbe représentative de l'absorption

Ainsi d'après EISENBERG et VOLK, l'absorption paraît augmenter d'une façon indéfinie. D'autre part le coefficient d'absorption diminue progressivement sans cependant jamais atteindre zéro. Nous pourrons donc représenter la marche de l'agglutination dans les diverses concentrations par la courbe ci après qui est une asymptote : (1)

(1) D'après DREYER et DOUGLAS (1906), l'absorption de l'agglutinine ne serait pas indéfinie. En mettant des concentrations croissantes de sérum agglutinant en présence de quantités constantes de bactéries, l'absorption d'agglutinine augmente jusqu'à une certaine limite, puis diminue. Ici la courbe représentative de l'absorption serait donc toute différente ne celle qui résulte des travaux d'EISENBERG et VOLK.



Absorption avec différents sérums

Eisenberg et Volk ont étendu leurs recherches à d'autres sérums. Leurs expériences ont porté sur des sérums de chevaux, de chèvres, de lapins immunisés, soit contre le bacille d'Eberth soit contre le vibrion cholérique. L'avidité de l'agglutinine pour l'antigène pouvait varier d'un sérum à l'autre, mais tous ces sérums présentaient une *absorption absolue*, croissant avec la concentration et un *coefficient d'absorption* décroissant. La courbe variait d'un sérum à l'autre, mais l'absorption suivait la même loi. Des essais faits par d'autres expérimentateurs Wassermann, Karwaki et Benni (1906) sur des sérums cholériques, pyocyaniques, tuberculeux, etc, ont donné des résultats analogues.

Ainsi pour une quantité d'agglutinine donnée, mise en présence d'une unité de substance agglutinable, l'absorption d'agglutinine par les microbes est variable suivant les sérums.

Muller a montré que dans un sérum dont le titre agglutinant a été diminué par absorptions successives d'agglutinine, le coefficient d'absorption est moindre que dans le même sérum dont le titre a été diminué par simple dilution. Cet auteur en conclut que le sérum est un mélange d'anticorps *d'affinités* variables, et que l'addition des antigènes

au sérum concentré a eu pour effet de fixer la fraction la plus avide des anticorps. De plus, MULLER a prouvé que l'avidité des anticorps augmente lorsqu'on poursuit l'immunisation : à côté des anticorps produits au début de l'immunisation et qui ont une affinité faible, le sérum en renferme de plus récents et, par conséquent, de plus avides.

Absorption par les bacilles chauffés

EISENBERG et VOLK se sont demandés si la température de 65° à laquelle les microbes commencent à devenir inagglutinables, influençait l'absorption de l'agglutinine et dans quelle mesure. Ils ont opéré sur des bacilles typhiques chauffés à différentes températures variant de 65° à 144°

Tableau XII d'EISENBERG et VOLK

Rapports d'union des bactéries chauffées.
Sérum « Zoroastre ».
Unités d'agglutinine 45.000

BACTÉRIES NORMALES	DILUTION DE SÉRUM				
	1 2	1.10	1 100	1.600	1 1.000
	12.500	ca 3.000	400	75	45
65°			445		45
70°	5.000		430	73	44
85°		2.500	440		45
100°	5.000				43
120° 1 atm.	5.000				43
134° 2 atm.	5.000				40
144° 3 atm.	5.000		400		40
165-170°		2.500	410	73	43

Les chiffres de ce tableau montrent que pour des bacilles chauffés à une température inférieure à 100°, l'absorption en dilution étendue est sensiblement la même que pour les bacilles normaux, mais en dilution concentrée, elle est abaissée. Nous devons en conclure que la substance agglutinable des bacilles typhiques n'a pas été altérée par la chaleur, ce qui constitue le pendant des expériences de PICK (voir ch. III § 2) sur la résistance de la substance agglutinable. Comment expliquer alors que dans les concentrations fortes, l'absorption ait varié. Nous pouvons ici encore supposer l'existence de *corps empêchants* de PORGES gênant la réaction ou la retardant. Cette supposition est plausible, étant donné que par la chaleur, il se forme des corps nouveaux (voir ch. II) qui empêchent la floconnisation et qui pourraient également entraver l'absorption en dilution concentrée, mais dans ce cas seulement.

Pour les bacilles chauffés au delà de 100°, nous constatons d'après le tableau d'EISENBERG et VOLK que l'absorption même en dilution étendue est diminuée. Ici, la substance agglutinable a été altérée, ce qui correspond bien aux données de PORGES sur l'agglutination des bactéries chauffées au delà de 100°, agglutination plus faible que celle des bactéries normales (voir ch. II).

Les expériences inédites de LASSEUR concernant l'absorption par les bacilles *chlororaphis*, *Balticus*, *Le Monnieri*, etc, de leur aglutinine spécifique, montre que ces germes chauffés n'agissent pas comme le bacille typhique étudié par EISENBERG et VOLK. LASSEUR a constaté que B. *balticus*, par exemple chauffé à 80°, absorbait moitié moins d'agglutinine que les mêmes bacilles vivants, quelle que soit la dilution du sérum.

Sérums contenant de l'agglutinoïde

Eisenberg et Volk ont aussi expérimenté sur des sérums vieillis, chauffés, acidifiés, ou ayant subi tel autre traitement capable de déterminer la production d'agglutinoïde. Ils ont trouvé pour ces sérums, une absorption suivant la même loi que celle des sérums ordinaires, c'est-à-dire croissant avec la concentration pendant que le coefficient d'absorption diminue. Cependant ici les proportions ne sont plus les mêmes. L'absorption absolue pour une même quantité d'agglutinine en expérience, est moindre qu'avec les sérums complets. On comprend aisément que les microbes ayant à absorber de l'agglutinine et de l'agglutinoïde, et leur pouvoir absorbant restant le même, la quantité d'agglutinine fixée soit diminuée.

TABLEAU XIV

3e sérum « Zoroastre » ancien. — Unités d'agglutinine 30.000

Dilutions de sérum	Unités d'agglutinine correspondantes	Absorption absolue	Coefficient d'absorption
1/1.000	30	30	20/20
1/600	50	50	20/20
1/100	300	250	16/20
1/10	3.000	1.500	10/20
1/2	15.000	6 000	8/20

Nous voyons que l'absorption absolue est moindre qu'avec le sérum frais. Mais le coefficient est calculé uniquement d'après la quantité d'agglutinine active. En réa-

lité l'absorption a été plus large, car une certaine quantité d'agglutinoïde a été fixée.

Pour bien se rendre compte qu'il en était ainsi, Eisenberg et Volk ont comparé les pouvoirs d'absorption des bacilles de même culture mis en contact les uns avec du sérum neuf, les autres avec un sérum de même nature, mais contenant de l'agglutinoïde. Les bactéries provenant d'un sérum vieilli, ayant absorbé, par exemple, 300 unités d'agglutinine sont encore en état de fixer de nouvelles quantités d'agglutinine. Toutefois, cette quantité est plus petite que celle qui pourrait être absorbée par ces mêmes microbes, ayant fixé préalablement eux aussi 300 unités d'agglutinine, mais dans un sérum neuf ; il est naturel d'en conclure que leur pouvoir d'absorption après séjour dans un sérum vieilli est moins grand, parce qu'elles ont fixé non seulement de l'agglutinine, mais encore de l'agglutinoïde.

Wassermann (1903) confirme les résultats d'Eisenberg et Volk. Cet auteur a obtenu un sérum typhique qui, traité par l'acide chlorhydrique, n'était plus agglutinant et cependant les bacilles d'Eberth saturés par ce sérum, n'étaient plus agglutinés par du sérum agglutinant non chauffé.

Sérums normaux

Eisenberg et Volk ont aussi recherché si l'agglutinine normale suivait les mêmes lois que l'agglutinine spécifique au point de vue de l'absorption. Leurs expériences ont montré que l'agglutinine normale se comportait comme l'agglutinine spécifique. La courbe de l'absorption avec des doses croissantes d'agglutinine peut être représentée également par une asymptote, mais pour une même

quantité d'agglutinine mise au contact des bactéries, l'absorption absolue de l'agglutinine normale est généralement plus faible que celle de l'agglutinine spécifique.

Toutefois, parmi les sérums normaux, les auteurs ont trouvé des exceptions à cette règle. Plusieurs sérums normaux de différentes provenances n'ont cédé qu'une unité d'agglutinine à la substance agglutinable, quelle que soit la concentration relative du sérum et des bactéries. On n'a donné jusqu'ici aucune explication convenable de ce phénomène.

Epuisement d'un sérum par les bactéries

Il résulte des expériences précitées que l'épuisement d'un immunsérum de haute valeur agglutinante par un seul apport de bactéries est difficile à réaliser, à moins que ce sérum soit suffisamment dilué. En effet, en se replaçant dans les conditions d'expériences du tableau III d'Eisenberg et Volk, par exemple, il faut une dilution au moins égale à 1/600 pour que toute l'agglutinine soit absorbée. Il faudrait donc pour une dilution de 1/1, 600 fois plus de bactéries, soit 20 tubes sur gélose par centimètre cube ou 200 tubes pour 10 cm cubes ; ce qui est difficilement réalisable. Il faut donc, pour épuiser un sérum, ou bien faire plusieurs apports successifs de bactéries, ou bien opérer sur une dilution étendue de sérum.

§ 2. — VITESSE DE RÉACTION DE L'AGGLUTININE SUR LA SUBSTANCE AGGLUTINABLE.

Eisenberg et Volk constatèrent que le même sérum mis en contact, pendant cinq minutes ou pendant une heure avec son antigène, puis décanté, montrait, dans les deux

cas, le même pouvoir agglutinant : l'union de l'anticorps et de l'antigène paraît être presque instantané. Ces expérimentateurs remarquaient également que la température n'influe pas sur l'union des deux corps ; en effet, ils obtiennent les mêmes résultats à 0° ou à 37°. EISLER et TSURU (1910) confirment sur ce point EISENBERG et VOLK.

Contrairement à ces auteurs, DREYER et DOUGLAS (1910) n'auraient pas constaté autant de rapidité dans l'union de l'agglutinine et de la substance agglutinable. D'après ces expérimentateurs, l'absorption de l'agglutinine par les microbes serait seulement terminée quatre heures après l'addition de sérum à l'émulsion bactérienne.

Quoi qu'il en soit, ces constatations sont une preuve de plus qu'il faut nettement distinguer, d'une part, la fixation de l'anticorps sur l'antigène qui commence presque instantanément (et se poursuivrait, d'après DREYER et DOUGLAS au plus pendant quatre heures) et, d'autre part, la floconnisation qui tarde plus ou moins à apparaître suivant les sérums et suivant la température. On sait, en effet, qu'avec des sérums dilués la floconnisation peut n'apparaître qu'après vingt-quatre heures de contact, à la température du laboratoire.

On pourrait, à ce sujet, émettre deux hypothèses. Ou bien l'action du sel marin sur les bactéries chargées d'agglutinine s'exercerait plus ou moins rapidement suivant les sérums et la température de la réaction, ou bien, d'après ARRHÉNIUS (1904), la fixation de l'agglutinine sur le microbe serait suivie d'une union plus intime de l'anticorps et de l'antigène. C'est ce deuxième travail intérieur qui se produirait avec plus ou moins de rapidité, suivant la nature du sérum et la température de la réaction.

§ 3. — RÉVERSIBILITÉ DE LA RÉACTION D'UNION

Les bactéries chargées d'agglutinine, lavées et émulsionnées dans du sérum physiologique ou dans de l'eau distillée, ne cèdent pas, suivant Hahn et Trommsdorf (1900), d'agglutinine au liquide. Posselt et Sagasser (1903), en traitant des bactéries agglutinées par la soude, même à une haute température, ne trouvent aucune agglutinine dans le liquide de lavage des bactéries. Il semble donc bien que l'union de l'agglutinine et de la substance agglutinable ne soit pas une union réversible.

Cependant, certaines données permettent, non pas d'admettre une réversibilité complète du phénomène, mais au moins une certaine dissociation possible de l'agglutinine. Eisenberg et Volk trouvent que des bactéries ayant été en contact avec un sérum contenant une grande quantité d'agglutinine, n'en absorbent plus lorsqu'elles sont mises en contact avec un sérum notablement moins riche. Bien plus, elles en cèdent à ce liquide. Hahn et Trommsdorf constatent que les bactéries *agglutininées* (c'est-à-dire chargées d'agglutinine), se dissolvent : soit dans la lessive de soude normale, soit dans une très faible solution d'acide à 37° en communiquant au liquide un faible pouvoir agglutinant. Arrhénius (1904) est parvenu à opérer une dissociation partielle des anticorps et de la bactérie, mais peu de temps seulement après avoir retiré la bactérie du sérum, Eisenberg et Volk trouvent également que le temps joue un rôle essentiel dans la dissociation des deux corps, plus longtemps les deux substances ont réagi l'une sur l'autre, moins la dissociation est possible. Landsteiner

et Reich (1905) observent de même une dissociation partielle de l'agglutinine, surtout lorsque les microbes ont été peu de temps en contact avec le sérum ; mais ils n'ont jamais pu réaliser une dissociation totale du complexe, même par l'action prolongée d'une température élevée.

En somme, on peut affirmer que l'union de l'agglutinine et de la substance agglutinable n'est pas une réaction réversible, comparable à celle de l'acide acétique sur l'alcool, par exemple. Toutefois, une faible partie de l'agglutinine peut être dissociée lorsque l'union des deux composants est récente.

§ 4. — PROPRIÉTÉS ACQUISES DU COMPLEXE ANTICORPS-ANTIGÈNE

a) Instabilité des bactéries agglutininées

Une des principales propriétés acquises par les bactéries chargées d'agglutinine, c'est d'être floconnisées par le chlorure de sodium, sel qui ne précipite pas les bactéries, à l'état naturel. Nous savons que l'action de l'agglutinine seule n'est pas suffisante pour précipiter les bactéries. C'est Bordet qui, le premier, en 1899, montra que la présence du sel était nécessaire à l'agglutination. Lorsqu'on lave des bactéries agglutinées et qu'on les émulsionne dans de l'eau distillée, on obtient une émulsion stable, mais si on y ajoute du chlorure de sodium, on voit la floconnisation des bactéries se produire à nouveau.

Joos a montré qu'un mélange d'émulsion de bactéries dépourvues de sel par lavage et de sérum également dépourvu de sel par dialyse, ne donne pas de préci-

pité, même en forte concentration. Lorsquon aoute du sel à ce milieu, la floconnisation se produit.

Les sérums, lorsqu'ils ne sont pas trop dilués, contiennent une quantité de sel suffisante pour l'agglutination. Lorsque la dilution de sérum dépasse 1/4.000, l'agglutination visible ne se produit pas, il faut ajouter du sel au milieu. La quantité minima de sel nécessaire pour produire l'agglutination est donc extrêmement faible, puisqu'un sérum dilué à 1/40.000 ne contient environ que 0,0015 de sel marin, par litre. Toutefois, d'après Joos (1902), cette quantité de sel ne peut précipiter qu'un petit nombre de bactéries : la quantité de sel nécessaire à la précipitation augmente avec la quantité de substance agglutinable. Neisser et Friedeman (1904) ont constaté que la floculation par le sel des bactéries agglutininées de même que celles des colloïdes ne se produit pas au-dessous d'une certaine concentration de sel. Au-dessus de ce degré de concentration, elle se fait proportionnellement à la quantité d'électrolyte ajouté. Mais cette proportion n'est pas indéfinie, lorsque la concentration en sel est trop élevée, elle peut non seulement ne pas provoquer la réaction, mais la retarder et même l'empêcher. Le sel marin n'est pas seul à avoir une action précipipante, uniquement sur les bactéries chargées d'agglutinine. Il en est de même des sels des métaux alcalins et de la plupart des métaux terreux et alcalino-terreux.

D'après Neisser et Friedemann, les sels de mercure et d'argent, les sels des métaux lourds précipitent les émulsions de bactéries agglutininées dans une solution plus étendue que celle nécessaire à la précipitation des bactéries normales. Le sulfate de zinc, par exemple, précipite les bactéries agglutininées dans une solution dix fois plus étendue que celle nécessaire à la précipitation des

bactéries normales. Les acides, l'alcool éthylique, les sels des métaux trivalents ne précipitent pas plus sensiblement les bactéries agglutininées que les bactéries normales. En résumé, d'après Neisser et Friedemann, les bactéries agglutininées suivent sensiblement les lois de précipitation des colloïdes par les électrolytes. Les bactéries normales se comportent, dans l'ensemble d'une façon analogue, toutefois leur mode de réaction vis-à-vis des sels alcalins et alcalino-terreux est différent de celui des colloïdes.

b) Action agglutinogène des bactéries chargées d'agglutinine ?

Les bactéries chargées d'agglutinine conservent-elles encore la propriété agglutinogène ?

D'une part, Nicolle et Trénel (1901) ont obtenu des sérums très agglutinants par l'injection de bacilles agglutinés. J. Rehns (1901), refaisant l'expérience en saturant les microbes par un excès considérable d'agglutinine, obtient également un sérum très agglutinant. Schwartz (1908) et Toyosumi (1909) confirment ces résultats. Dans ce cas, l'union de l'anticorps et de l'antigène ne paraît pas suffisamment stable pour rendre le complexe agglutinogène. D'autre part, Neisser et Lubowsky (1901), Fonteyne (1909), par l'injection, à des animaux, de bactéries qu'ils considèrent comme saturées d'agglutinine, ont trouvé que ces microbes n'étaient plus agglutinogènes.

Devant ces données contradictoires, la question ne peut donc pas être résolue.

c) Action du courant électrique sur les bactéries agglutininées

D'après NEISSER et FRIEDMANN (1904), les bactéries agglutininées sont précipitées par le courant électrique, alors que les bactéries normales sont transportées à l'anode.

LASSEUR, au contraire, montre que les bactéries chargées d'agglutinine et placées en suspension dans *l'eau distillée* sont transportées à l'anode tout comme les bactéries normales. Les bactéries agglutininées dans un milieu contenant un sel sont floconnisées par cet électrolyte, *mais les amas eux-mêmes sont entraînés au pôle positif.*

§ 5. — NATURE DE L'UNION ANTIGÈNE-ANTICORPS

Après avoir exposé dans quelles proportions s'unissent l'agglutinine et la substance agglutinable, énuméré les différents facteurs qui influent sur cette union et les propriétés du complexe obtenu, il nous reste à en déduire la nature de cette union.

Sommes-nous en présence d'une combinaison chimique ou d'une union simplement physique ?

Certains auteurs, notamment JOOS (1902), admettent une union chimique analogue à la combinaison d'un acide et d'une base, ce qui est en concordance avec la théorie chimique d'EHRLICH sur l'immunité. Pour expliquer que des quantités croissantes d'agglutinine peuvent être absorbées par les bactéries, JOOS invoque la loi des proportions multiples qui permet de concevoir la formation de plusieurs corps différents, suivant la quantité

de produits entrant en combinaison. Mais la lecture des tableaux d'EISENBERG et VOLK écarte cette conception. Tant qu'on ne constate pas un excès d'agglutinine dans le sérum, on peut admettre que la quantité d'agglutinine est insuffisante pour saturer toute la substance agglutinable dont une partie reste libre. Mais dès qu'on rencontre un excès d'agglutinine dans le sérum et en même temps une absorption progressive de l'agglutinine, la loi des proportions définies n'est plus appliquable. Même en admettant la formation de plusieurs composés en vertu de la loi des proportions multiples il ne devrait jamais y avoir d'excès d'agglutinine dans le liquide. Cet excès devrait être absorbé par une partie de la substance agglutinable pour former l'homologue supérieur.

ARRHÉNIUS et MADSEN (1904) sont également partisans d'une union chimique des deux corps en présence, mais ils la conçoivent « non pas comme une réaction chimique entre un acide fort et une base forte, mais entre une acide faible et une base faible, par exemple l'ammoniaque et l'acide borique. La réaction *anticorps + antigène* est assimilable aux réactions réversibles, admettant un état d'équilibre instable entre les composés et régie par la loi des masses de GULDBERG et WAAGE. » (BURNET : Microbes et toxines, page 249).

Cette conception est, d'après ARRHÉNIUS, en accord avec les chiffres donnés par EISENBERG et VOLK, les proportions dans lesquelles s'unissent l'agglutinine et la substance agglutinable sont sensiblement en conformité avec la loi des équilibres chimiques de GULBERG et WAAGE ; l'absorption absolue d'agglutinine augmente pendant que l'absorption relative diminue. Cependant, beaucoup d'auteurs, NERNST, BILTZ, etc., n'admettent pas la théorie d'ARRHÉNIUS et font observer que la réaction anti-

gène + anticorps n'est pas réversible. Mais nous avons vu ,en effet au paragraphe 3 du présent chapitre, que la réversibilité complète de l'union ne pouvait être réalisée surtout lorsque l'union des deux corps avait eu lieu déjà depuis quelques jours. De plus, les réactions réversibles obéissent à des conditions déterminées de température, de pression et de temps ; or, ces facteurs n'influent pas sur la réaction antigène-anticorps. Il ne nous semble pas possible, dans ces conditions, de considérer cette dernière comme une combinaison chimique. Il vaudrait mieux, semble-t-il, considérer avec Bordet, l'union de l'antigène et de l'anticorps comme un phénomène d'adsorption ou d'adhésion moléculaire analogue aux phénomènes de teinture, ou encore à l'action de l'iode sur l'amidon. Des fibres textiles ou des cellules peuvent retenir des teintures en quantité plus ou moins grande, et l'amidon absorber des doses variables d'iode et se teindre en bleu plus ou moins intense sans qu'il y ait combinaison chimique. Il y a seulement adhésion et juxtaposition des molécules. De même, les microbes peuvent absorber une quantité variable d'agglutinine. Il y aurait juxtaposition des molécules de substance agglutinable et d'agglutinine.

Au moment où Bordet (1896) conçut l'union de l'antigène et de l'anticorps comme un phénomène d'adsorption, on ne connaissait que très peu les propriétés des colloïdes. Des études ultérieures ont montré que les phénomènes d'adsorption se rencontrent très souvent dans cette catégorie de corps et ont permis de rapprocher analogiquement l'union antigène-anticorps et l'adsorption d'un colloïde par un autre colloïde. Mais un seul point de ressemblance, l'union en proportions indéfinies ne justifie pas une analogie. Il faut entrer dans le détail, et voir si

les principales propriétés des colloïdes, d'une part, et celles des antigènes et des anticorps, d'autre part légitiment ce rapprochement. On sait que la plupart des liquides de l'organisme contiennent des colloïdes en suspension. Le sang, notamment, contient de nombreux corps albuminoïdes ; or, les albuminoïdes sont essentiellement des corps colloïdaux. Il est donc extrêmement probable que les agglutinines qui sont fixées sur les albumines et partagent tous leurs caractères de diffusion et de précipitation sont également des colloïdes. Quant à la substance antigène des microbes, elle se comporte comme les colloïdes au point de vue de la diffusion, de l'instabilité et de l'action de la chaleur. Les bactéries naturelles, c'est-à-dire non chargées d'agglutinine, sont, d'après Neisser et Friedemann, floconnisées par les acides et les sels des métaux lourds, comme beaucoup de colloïdes, notamment une suspension de mastic.

C'est surtout, comme nous l'avons dit, dans l'absorption des colloïdes qu'on trouve des analogies avec l'union de l'anticorps et de l'antigène. Lorsqu'on ajoute un colloïde à un autre colloïde, ces deux corps forment un complexe sans combinaison chimique. Cette adsorption a lieu dans des conditions analogues à celle de l'agglutinine et de la substance agglutinable.

On sait que les suspensions colloïdales sont des milieux hétérogènes formés de granules suspendus dans un liquide intergranulaire. Il existe entre le liquide et les granules un certain état d'équilibre. Lorsqu'on ajoute à un colloïde en suspension un autre colloïde capable de s'unir avec le premier, une partie du colloïde ajouté est absorbée par le colloïde en suspension. Le partage du corps ajouté se fait, entre les granules et le liquide intergranulaire,

suivant une loi déterminée ; la quantité absorbée par les granulès augmente avec la quantité de corps ajoutés ; mais moins rapidement que la vitesse d'addition du corps, autrement dit l'absorption absolue augmente, mais l'absorption relative diminue. C'est précisément ce qu'Eisenberg et Volk ont trouvé pour la fixation de l'agglutinine. Comme on le voit, l'analogie est grande entre les deux phénomènes, Ajoutons que la quantité de corps absorbé par les granules doit être divisée en deux portions : *a*) une partie absorbée, mais réversible ; *b*) une partie absorbée définitivement d'une manière irréversible qui ne disparaît pas au lavage : c'est la partie adsorbée. [V. Henri (1903).]

Les phénomènes de *précipitation* d'un colloïde par un colloïde peuvent être également rapprochés du phénomène de l'agglutination. Un mélange de deux colloïdes : mastic et gélatine, par exemple, en proportion qui n'amène pas la précipitation peut être précipité par l'addition de sel marin. Il y a ici analogie complète avec l'agglutination.

Comme on le voit, les principales réactions des colloïdes et des anticorps et antigènes sont d'une connexité étroite. On peut, malgré quelques différences, admettre que les mêmes lois d'absorption et d'attraction moléculaire conviennent aux colloïdes d'une part et aux substances anticorps et antigène, d'autre part (1).

---

(1) La conception de l'union physique de l'agglutinine et de la substance agglutinable n'est pas en désaccord avec la notion de spécificité. On peut concevoir, pour les corps en présence, des affinités variant avec leur état physique : grosseurs des particules, charges électriques, etc. ; on a édifié en conformité avec les phénomènes d'adsorption des théories de la spécificité. Nous ne les exposerons pas, car elles ne sont pas au point, ne s'appuyant encore que sur un petit nombre d'expériences, peu probantes d'ail-

§ 6. — NATURE DE LA FLOCONNISATION

La première phase de l'agglutination est un phénomène physique semblable à l'adsorption d'un colloïde par un colloïde. Quant à la deuxième, la précipitation par le sel des bactéries chargées d'agglutinine, consiste-t-elle en une réaction chimique entre le sel et le complexe antigène-anticorps, ou seulement en une destruction de l'équilibre de l'émulsion bactérienne dans le milieu liquide par la seule présence du sel ?

Il semble d'après les travaux de Joos (1902), qu'une partie du sel contenu dans ce liquide soit absorbé par les bactéries agglutinées. Comme cette quantité de sel absorbé croît avec la quantité de bactéries précipitées, Joos a voulu voir une combinaison chimique de l'agglutinine, de la bactérie et du sel qui donnait naissance à un corps nouveau insoluble. Mais cette hypothèse semble devoir être repoussée. Il se peut qu'il existe une combinaison chimique du sel et des produits bactériens, mais ce seul fait ne paraît pas être la cause de l'agglutination. Les bactéries agglutinées peuvent être réémulsionnées dans l'eau distillée et donner une émulsion durable. On ne voit pas pourquoi le nouveau composé antigène-anticorps-sel, qui, d'abord, était incapable de réaliser une émulsion stable, pourrait maintenant en produire une dans des conditions identiques. Il nous semble

---

leurs. Pour LANDSTEINER et STANCOVIC (1906), qui ont étudié l'adsorption des agglutinines par la caséine modifiée par différents réactifs, la fixation de l'agglutinine par la substance agglutinable, dépend, à la fois, de la nature chimique et des propriétés physiques des corps en présence.

plutôt, comme BORDET l'admet, que le changement dans l'équilibre de la suspension est dû au seul fait de la présence du sel dans le milieu. Voulant montrer que le sel peut précipiter une émulsion homogène, BORDET cite l'exemple d'une émulsion d'argile qui est précipitée par l'addition de sel ; or, il ne paraît pas que ce soit là un cas de combinaison chimique. Une émulsion de bactéries agglutinées est stable dans l'eau distillée et instable dans l'eau chargée d'électrolyte. Il est plus simple de penser que la présence du sel dans le liquide change les conditions d'attraction des bacilles entre eux et le liquide et amène la précipitation. La floculation colloïdale par les électrolytes nous apparaît comme étant un phénomène du même genre. C'est la présence du sel dans le milieu qui est cause de la rupture d'équilibre de la suspension colloïdale. Ceci ne prouve pas cependant qu'il n'y ait pas, en partie, absorption de sel par le colloïde.

« Si on précipite, comme l'a fait DUCLAUX, du ferrocyanure de cuivre colloïdal par un sel de métal divalent (barium), on trouve que le coagulum a absorbé du barium et il a cédé une proportion équivalente de potassium qui faisait partie de la micelle : c'est une véritable substitution. » (COTTON et H. MOUTON). Quoi qu'il en soit, qu'il y ait adsorption d'électrolyte par la micelle ou combinaison des deux corps, ce phénomène concommitant ne suffit pas à provoquer la floculation ; il faut dans le liquide un excès plus ou moins grand de sel. Ainsi la globuline ne précipite que par un grand excès de sulfate de magnésie.

La floconnisation d'une émulsion bactérienne par le sel marin nous apparaît donc, elle aussi, comme une action physique comparable à la floculation des colloïdes par un électrolyte ; on a émis pour expliquer cette action

d'un sel sur les colloïdes des théories nombreuses, c'est dire qu'elles n'ont rien de définitif. Leur exposition ne rentre pas, d'ailleurs, dans le cadre de cet ouvrage (1).

Certains auteurs attribuent l'agglutination à l'augmentation de tension superficielle, d'autres à la diminution de la charge électrique, d'autres encore à une viscosité plus faible du milieu Il résulte des recherches inédites de LASSEUR, effectuées au cours de ces dix dernières années, que la stabilité des suspensions colloïdales et par suite l'agglutination sont sous la dépendance de quatre facteurs au moins : charge électrique, tension superficielle, viscosité, osmose. L'importance de chacun de ces facteurs varierait suivant les conditions d'expérience.

---

(1) Voir V. HENRI, COTTON et MOUTON, BILTZ, LANSTEINER, etc.

RÉSUMÉ DU CHAPITRE VII

L'agglutinine et la substance agglutinable ne s'unissent pas suivant la loi des proportions définies. Une quantité donnée de substance agglutinable peut absorber des quantités variables d'agglutinine. La fixation d'agglutinine sur les microbes augmente avec la quantité d'agglutinine ajoutée pendant que le coefficient d'absorption, c'est-à-dire le rapport entre l'agglutinine fixée et l'agglutinine mise en présence des microbes diminue.

Arrhénius conçoit l'union de l'agglutinine et de la substance agglutinable comme une combinaison chimique analogue à celle d'un acide faible et d'une base faible, et par conséquent, comme réaction réversible. Bordet, au contraire, voit dans cette union un phénomène d'adsorption analogue à ceux qu'on a observés chez les colloïdes.

La présence d'un électrolyte est nécessaire pour amener la floconnisation du complexe anticorps-antigène. Il semble bien qu'il y ait fixation de sel par ce complexe, mais cette fixation est insuffisante pour amener la floconnisation ; il faut encore qu'une certaine quantité d'électrolyte existe à l'état libre dans le milieu.

L'agglutination paraît être sous la dépendance d'au moins quatre facteurs : charge électrique, tension superficielle, viscosité, osmose.

La première phase de l'agglutination montre une grande analogie avec l'adsorption d'un colloïde par un autre colloïde. La deuxième phase est comparable à la floculation d'un complexe colloïdal par un électrolyte.

CHAPITRE VIII

AGGLUTINATION ET IMMUNITÉ

De l'immunité en général

L'immunité contre les maladies infectieuses est, d'après METCHNIKOFF, l'ensemble des phénomènes grâce auxquels un organisme peut résister à l'attaque des microbes infectants.

On distingue l'immunité naturelle et l'immunité acquise. On sait, en effet, que certains microbes sont pathogènes pour certaines espèces animales, et ne le sont pas pour d'autres animaux. Ces derniers possèdent une immunité naturelle, vis-à-vis de ces microbes. On sait également que certaines maladies infectieuses : fièvre typhoïde, charbon, rougeole, etc., confèrent l'immunité après une première atteinte. De même, l'injection à un individu de petites doses répétées d'une culture atténuée d'un microbe pathogène préserve cet individu de l'infection causée

habituellement par ce microbe ; on dit que cet individu est vacciné. Ce sont là des exemples d'immunité acquise.

Pour expliquer le mécanisme de l'immunité, de nombreuses théories ont été émises ; nous ne retiendrons pour l'examen que les deux principales : la théorie cellulaire et la théorie humorale.

Suivant la théorie cellulaire, œuvre de METCHNIKOFF, et de son école, l'immunité est due à l'action des leucocytes, qui englobent et digèrent les microbes. Dans le cas de l'immunité acquise, les leucocytes se trouvent doués par le fait même de l'immunisation d'un pouvoir défensif tout particulier contre le microbe qui a déterminé la maladie ou servi à la vaccination. Ils se dirigent vers les germes envahisseurs, les englobent et les digèrent. En dernier analyse, le phénomène se réduit à une sensibilité cellulaire aux influences chimiotaxiques et à une digestion intra-cellulaire. Comme on le voit, l'immunité phagocytaire est un ensemble de phénomènes biologiques.

A la doctrine de METCHNIKOFF, trouvée par eux trop vitaliste, les savants allemands préfèrent la théorie humorale qui prétend fournir une explication purement physico-chimique du phénomène de l'immunité. Cette théorie, dont EHRLICH fut un des principaux défenseurs, veut que l'état d'immunité soit dû aux propriétés que les humeurs de l'organisme possèdent naturellement ou ont acquises au cours de l'immunisation. Cette action des humeurs serait indépendante de celle des cellules. Certains partisans de cette théorie déniaient même toute activité défensive aux phagocytes. Pour KOCH, WALDEYER, etc., les microbes trouvaient dans les leucocytes un lieu de croissance propice et un moyen de dissémination dans l'organisme. (BURNET, Microbes et toxines, p. 218.)

Ces deux théories phagocytaire et humorale, furent longtemps opposées, mais elles ne sont cependant pas irréductibles. Depuis quelques années, on tend, en effet, à les rapprocher et à admettre qu'elles se complètent mutuellement. Dans la lutte contre les microbes et les autres agents nuisibles à l'organisme, les cellules et les humeurs apportent leur quote-part qui reste à déterminer, mais il semble bien que l'action cellulaire soit prépondérante. La découverte de l'action des opsonines et des bactériotropines, corps que l'on rencontre dans les humeurs et qui facilitent l'action de la phagocytose a servi, pour une large part, de trait d'union aux deux théories.

A quelque théorie de l'immunité qu'appartienne la primauté, quoiqu'il en soit de l'action vitaliste ou de l'action physico-chimique qui, suivant ces doctrines, serait le mécanisme dernier de l'immunité, elle ne nous intéresse pas ici en tant que théorie. Nous ne retiendrons d'elles que les faits admis de tous qu'elles apportent, à savoir : la phacocytose, d'une part, l'action nocive des humeurs de l'organisme, d'autre part. C'est cette dernière action des humeurs que nous voulons exposer brièvement dans le but de trouver quelque éclaircissement sur le rôle des agglutinines dans la défense de l'organisme.

Action bactéricide des humeurs

A. *In vitro.* — L'action bactéricide *in vitro* des humeurs est un fait incontestable. Elle a été aperçue pour la première fois par Fodor et Nuttal en 1893, pour le sérum normal.

Buchner a attribué ce pouvoir bactéricide à une substance secrétée par les globules blancs : l'alexine. Behring et Nyssen montrèrent que l'action bactéricide des humeurs

d'un sujet vacciné est beaucoup plus intense pour l'agent infectant que le sérum normal. De nombreux travaux sur les immunsérums ont confirmé ces faits. Grâce aux travaux de Bordet et de son école, il est admis aujourd'hui que l'action bactéricide *in vitro* d'un immunsérum est due à l'action de deux substances : l'alexine, substance banale que l'on rencontre dans tous les organismes normaux, et la sensibilisatrice, substance spécifique n'existant que dans les organismes préparés ou immunisés. Ce dernier anticorps agit sur les germes microbiens à la façon d'un mordant dans la teinture d'une étoffe. De plus, elle n'altère pas les fonctions vitales des microbes, n'entrave pas leur production ni leur virulence, mais elle les rend sensibles à l'action de l'alexine. Ce dernier corps complète l'action de la sensibilisatrice, d'où le nom de complément par lequel on le désigne également.

B. *Action in vivo.* — Voyons maintenant si l'action bactéricide des humeurs à l'intérieur de l'organisme existe également. L'expérience prouve qu'il n'en est rien ; le sérum bactéricide *in vitro* n'attaque pas le microbe dans le sang circulant.

Ainsi lorsqu'on introduit des vibrions cholériques directement dans la circulation d'un lapin vacciné contre le choléra en les injectant dans la veine jugulaire, on retrouve une demi-heure après les microbes intacts dans le sang circulant. On les rencontre en grande partie à l'intérieur des leucocytes, mais ils ne sont pas encore digérés. Si on avait mis les mêmes vibrions cholériques en contact *in vitro* avec du sérum de ce lapin, on eût constaté en moins d'une demi-heure la dissolution en granules.

Salimbéni, confirmant Metchnikoff, Bordet, Cantacuzène, Mesnil, écrit : « La transformation en granules et la destruction des vibrions injectés sous la peau des animaux

hypervaccinés s'opère à l'intérieur des leucocytes. Jamais, nous n'avons pu constater leur transformation en granules en dehors des cellules. »

Comme BORDET l'a démontré, les microbes sont détruits par l'action combinée de l'alexine et de la sensibilisatrice. or, dans le plasma circulant, on ne rencontre habituellement que de la sensibilisatrice, l'alexine, ainsi que l'a démontré GENGOU, étant retenue à l'intérieur des leucocytes. La sensibilisatrice seule n'altère pas la vie du microbe, ni sa virulence. Le plasma circulant et les humeurs de l'organisme ne contenant normalement que cet anticorps à l'exclusion de l'alexine, il en résulte que les humeurs ne sont pas bactéricides dans le corps.

Dans le sérum retiré de l'organisme, au contraire, la sensibilisatrice et l'alexine existent ensemble, car il y a eu destruction de leucocytes, lors de l'extravasation du sang, ce qui a mis l'alexine en liberté.

L'expérience de PFEIFFER (1894) qui fut longtemps le grand argument des partisans de la théorie humorale ne prouve pas du tout l'existence d'une bactériolyse *in vivo*. On sait que cette expérience célèbre consiste en l'injection de vibrions cholériques dans le péritoine d'un animal vacciné contre le choléra.

Le liquide péritonéal retiré quelques minutes après l'injection ne contient pas de leucocytes, mais les vibrions qu'on y retrouve sont transformés en granules. Comme l'ont montré METCHNIKOFF et son école, si l'on introduit un liquide quelconque dans le péritoine, sa seule présence amène la destruction d'un grand nombre de leucocytes et par conséquent la libération d'alexine d'où la bactériolyse constatée. En somme PFEIFFER a réalisé dans le péritoine un milieu artificiel ressemblant davantage à celui de l'ex-

périence *in vitro* qu'à celui de l'organisme normal. Pfeiffer n'apporte donc pas de preuves de la bactériolyse par les humeurs seules à l'intérieur de l'organisme.

Action des sensibilisatrices dans l'immunité

Les humeurs d'un sujet vacciné ne sont pas dans l'organisme bactériolytique pour l'agent infectant, mais elles contiennent une substance spécifique, une sensibilisatrice qui prépare vraisemblablement le microbe à la digestion intracellulaire par l'alexine. Les sensibilisatrices jouent donc un rôle de défense en ce sens qu'elles favorisent le travail des leucocytes. Mais cette action préparatoire, mal connue du reste, n'a pas une importance capitale pour l'immunité, et nous ne pouvons pas déduire d'une quantité donnée de sensibilisatrice existant dans le sérum d'un individu son degré d'immunité.

Nombreux sont les faits qui nous empêchent d'établir comme loi une équivalence entre les sensibilisatrices et l'état d'immunité Ceci s'explique, si l'on sait que le rôle principal dans la défense de l'organisme est dévolu aux phagocytes.

Nous trouvons des animaux dont le sérum ne contient pas ou très peu d'anticorps sensibilisant tel microbe et qui sont immunisés contre ce germe. Ainsi, la poule est naturellement réfractaire au microbe du charbon et son sérum paraît être totalement dépourvu de sensibilisatrice. Il faut chercher la raison de cette immunité dans l'activité phagocytaire très grande de ces animaux vis-à-vis des microbes considérés.

D'autre part les animaux dont le sérum contient des sensibilisatrices actives pour un microbe donné sont généralement immunisés contre ce microbe. Mais il y a des

exceptions et si, pour une cause quelconque la phagocytose est diminuée chez ces animaux, ils pourront contracter la maladie malgré la présence de sensibilisatrices. Par l'administration d'un narcotique à des lapins vaccinés contre le choléra, et dont le sérum est très riche en sensibilisatrice, on contrarie l'action phagocytaire et les lapins meurent rapidement après l'injection des vibrions cholériques. Ainsi les sensibilisatrices ont bien un rôle dans la défense de l'organisme, mais c'est un rôle secondaire, l'action principale étant due à la phagocytose.

Action des agglutinines dans l'immunité

Maintenant que nous avons exposé le rôle capital de la phagocytose dans l'immunité le rôle encore très important des humeurs et des sensibilisatrices qu'elles contiennent, il nous reste à examiner quelle part les agglutinines peuvent avoir dans la défense de l'organisme.

Les agglutinines n'altèrent pas la membrane

Pour les premiers expérimentateurs, GRUBER et DURHAM, les agglutinines attaquaient la membrane du microbe, et celle-ci devenant visqueuse, provoquait l'accolement des bactéries. Cette altération de la membrane permettait l'action de l'alexine sur le protoplasme des bactéries et c'est ainsi que les agglutinines auraient contribué à la défense de l'organisme. Cette explication n'est pas conforme aux faits. D'abord l'alexine n'existe pas normalement dans le sang circulant. De plus, il est prouvé que les agglutinines seules débarrassées par le chauffage à 56° de l'alexine qui se trouve dans le sérum retiré du corps, n'attaquent en rien la membrane des microbes, ni leurs fouets (voir ch. I).

Les agglutinines ne rendent pas les microbes sensibles à l'action de l'alexine

Généralement un sérum agglutinant est en même temps bactériolytique et réciproquement. Certains auteurs ont voulu attribuer à l'agglutinine additionnée d'alexine une action bactériolytique ; en d'autres termes, ils identifient les sensibilisatrices et les agglutinines. Cette hypothèse est renforcée du fait que ces deux anticorps n'ont pu être séparés l'un de l'autre. Ils montrent, en effet, la même affinité pour les bactéries correspondantes et sont entraînés simultanément par les substances albuminoïdes précipitées par la chaleur ou par un réactif quelconque.

Malgré ces points communs, il n'est cependant pas possible d'identifier les deux corps, car dans un certain nombre de cas, on a trouvé un sérum présentant le pouvoir bactériolytique sans la propriété agglutinante et réciproquement.

Gengou (1899) montre qu'un sérum de chien ayant reçu des injections de bacilles de charbon fournit un sérum très agglutinant mais peu bactéricide. Paltauf (1913), F. Kasten obtiennent le même résultat par injections de bacilles typhiques ou de vibrions cholériques chauffés à 65°.

Altmann (1911) trouve que dans les infections à salmonelloses, l'agglutinine et le corps fixant le complément, apparaissent à des stades différents et disparaissent également successivement.

Brieger et Mayer (1903), en injectant à des lapins une substance qu'ils ont retirée des bacilles typhiques (voir ch. III), déterminent la production d'un sérum très agglutinant mais pas plus bactéricide qu'un sérum normal.

Réciproquement, nous pourrions citer ici un certain nombre d'observations montrant qu'un sérum peut être

dépourvu du pouvoir agglutinant tout en manifestant des propriétés bactéricides très marquées.

Mais ces exemples ne sont pas aussi probants que les précédents puisque l'absence d'agglutination visible n'est pas une preuve de l'absence d'agglutinine.

D'autres preuves peuvent encore être citées pour montrer qu'il n'y a pas lieu de confondre les deux anticorps. MAYER, en passant des cultures sur filtres de gélose retient les substances agglutinogènes alors que les substances lysinogènes sont entraînées. Enfin, d'après GENGOU (1899), ces deux anticorps auraient une origine différente : l'extrait leucocytaire contient des lysines, mais pas d'agglutines.

Les agglutinines facilitent-elles l'englobement des microbes par les phagocytes ?

Les agglutinines ne rendent pas les microbes sensibles à l'action dissolvante de l'alexine. Elles ne servent pas davantage à la fixation de cette alexine sur les microbes. N'ont-elles pas au moins pour effet de faciliter l'englobement des microbes par les leucocytes. Il paraît naturel d'admettre que les microbes réunis les uns aux autres et gênés dans leurs mouvements par l'état d'accolement sont plus facilement la proie des phagocytes. BESREDKA (1901), ayant agglutiné des bacilles typhiques par du sérum normal chauffé à 65° et ne contenant, par conséquent, ni sensibilisatrice ni alexine, a trouvé que ces bacilles agglutinés étaient mieux supportés par des cobayes que les bacilles non agglutinés. Mais cette explication serait valable si l'on avait pu constater le phénomène de l'agglutination *in vivo*, ce qui ne paraît pas être le cas (voir ch. I). Ce n'est donc pas par ce procédé que les agglutinines contribueraient à la défense de l'organisme.

Parallélisme entre l'immunité et l'agglutination

Il ne nous est pas possible de déterminer par quel processus les agglutinines contribuent à l'immunité. Devons-nous conclure qu'elles n'ont aucune action utile dans ce sens ? Pour pouvoir se faire une opinion à ce sujet, il faudrait savoir s'il existe ou non un rapport entre la quantité d'agglutinine contenue dans un sérum et l'état d'immunité du sujet observé. Voyons à ce sujet les indications de l'expérimentation et de la clinique.

Expérimentation. — Dans l'immunité naturelle, nous ne rencontrons que peu ou pas d'agglutinines, pas plus d'ailleurs que de sensibilisatrices ; toute l'action défensive paraît provenir de la phagocytose seule. Dans l'immunité acquise au contraire, nous trouvons habituellement, mais pas dans tous les cas, des agglutinines à côté d'autres anticorps.

Deutsch (1899) qui a étudié les relations existant entre l'agglutination des sérums et leur pouvoir préventif trouve que : « un pouvoir agglutinant élevé correspond toujours à une forte valeur préventive, mais une valeur élevée préventive ne correspond pas toujours à une forte agglutination. » (Annales institut Pasteur 1899 p. 716.) Il en conclut que « le pouvoir agglutinant ne peut être considéré comme étant la base du pouvoir immunisant, il l'accompagne dans la majorité des cas mais pas toujours. » (Op. cit. p. 726.) Widal et Nobécourt (1897) ayant injecté des souris avec de l'urine de typhique ont trouvé que sur 33 souris 17 résistèrent à une dose de bacilles d'Eberth sûrement mortelle pour les souris normales. Aucun de ces animaux ne montrait cependant le pouvoir agglutinant dans son sérum. Remarquons qu'on peut objecter que dans ces différents cas, il n'y avait pas d'agglutination visible, mais peut-être fixation d'agglutinine. Nous avons trouvé

deux cas vraiment décisifs. Frankel et F. Otto (1897) en faisant ingérer à des chiens des aliments additionnés de cultures typhiques obtiennent des sérums agglutinants, mais de faibles propriétés immunisantes. Wassermann (1903) opérant sur du bouillon pyocyanique filtré, l'additionnait de sérum agglutinant ; il y avait précipitation dans le bouillon. Ce liquide filtré à nouveau était lui aussi injecté à un lapin et le précipité recueilli sur filtre était injecté à un second lapin. Les deux lapins devenaient également immunisés. Le sérum obtenu avec le premier n'était pas agglutinant, mais bactériolytique. L'agglutination ne saurait être considérée comme cause, ni comme condition de l'immunité.

b) *Clinique.* — Voyons maintenant les données de la clinique. Le sang des individus guéris de maladies infectieuses et par conséquent considérés comme immunisés est généralement agglutinant, le pouvoir agglutinant se maintient pendant quelque temps. Cependant Pfeiffer et Kolle, par exemple, ont fait l'observation que le sérum de typhiques convalescents, considérés aussi comme immunisés, pouvait n'être pas agglutinant.

Widal et Sicard ont vu qu'un homme ayant eu une fièvre typhoïde grave terminée par la guérison n'avait jamais présenté d'agglutination dans son sang.

Réciproquement, les mêmes auteurs, de même Thiercelin et Lenoble (1896), rencontrèrent un convalescent de fièvre typhoïde qui fit une rechute quoique présentant une forte quantité d'agglutinine dans son sérum. P. Courmont, considérant la présence de l'agglutinine chez les typhiques comme un indice favorable a voulu tirer une méthode de séropronostic de la courbe de l'agglutination pendant la maladie. Voilà les conclusions qu'il a cru pouvoir formuler après un grand nombre d'observations. Une courbe forte-

ment ascendante, au moins parallèle à la courbe thermique, est un pronostic favorable. Le maintien de la courbe d'agglutination à la période d'état et la chute simultanée des deux courbes est également un indice de guérison.

Le maintien de la courbe thermique et la chute de la courbe de l'agglutination est un pronostic fâcheux et de même une faible agglutination durant toute la maladie. Goldberg (1901), Troussaint (1903), Mayer (1909), partagent l'opinion de Courmont. Sur 7 cas de fièvre typhoïde, Troussaint a constaté dans les cas mortels, que le bacille retiré du corps n'était pas agglutiné par le sérum du malade. De même, Mayer se basant sur les travaux de Basset-Smith sur la fièvre de Malte considère la présence d'agglutinine comme un bon pronostic. Par contre, Widal et Sicard estiment que l'agglutination n'a aucune relation avec l'immunité, c'est seulement pour eux un signe d'infection.

L'observation des porteurs sains de bacilles n'a pas amené d'éclaircissement à la question de l'action défensive qu'exercent les agglutinines. Certains, en effet, ont un sérum présentant un fort titre agglutinant, d'autres, au contraire, montrent un sérum dépourvu de pouvoir agglutinant.

Pour conclure, nous pouvons dire qu'il n'y a pas toujours concordance entre l'immunité d'un organisme et la présence d'agglutinines dans son sérum. On ne saurait dire qu'elles sont nécessaires ni même suffisantes à l'immunité, mais leur fréquence, dans les cas d'immunité, et dans les cas terminés par la guérison est un argument en faveur d'une participation de leur part à la défense de l'organisme. Comme les sensibilisatrices, elles auraient un rôle secondaire, le rôle principal étant, nous l'avons vu, celui d'une action cellulaire : la phagocytose.

Trop de facteurs, en effet, concourant à l'immunité, on conçoit que l'un ou l'autre puisse manquer sans que l'immunité fasse défaut, surtout lorsque ces facteurs manquants n'ont qu'une action secondaire comme les anticorps. Réciproquement, l'immunité peut manquer malgré la présence de nombreux anticorps, si l'action cellulaire, d'importance capitale est ralentie pour une cause quelconque.

Nous avons écarté plusieurs théories qui cherchaient à établir les moyens par lesquels l'agglutinine pouvait contribuer à la défense de l'organisme. Nous en sommes réduits à penser, avec SMITH (1906), sans d'ailleurs nous cacher le vague et l'insuffisance de cette dernière hypothèse, que l'agglutinine serait un stimulant de la phagocytose. Elle serait donc, sinon assimilable aux opsonines de WRIGHT, du moins de nature voisine (1).

---

(1) On sait que les organismes cellulaires sont attirés par certaines substances. MASSART et BORDET, en introduisant sous la peau de grenouilles des tubes capillaires contenant des produits divers, ont étudié certains phénomènes de chimiotaxie. Il existe des corps qui éloignent les leucocytes, d'autres qui les attirent. Les microbes chargés d'agglutinine n'exerceraient-ils pas sur les globules blancs une attraction de ce genre ? Ajoutons que, d'après SMITH, les microbes floconnisés par d'autres agents que l'agglutinine ne déterminent pas ce chimiotactisme positif des leucocytes.

RÉSUMÉ DU CHAPITRE VIII

Les agglutinines ne doivent pas être confondues avec les anticorps bactériolytiques. Elles n'altèrent pas les microbes et ne les rendent pas sensibles à l'action de l'alexine ; elles peuvent exister en l'absence de sensibilisatrices et réciproquement. Elles ne sont pas douées de la propriété préventive.

La fréquence des agglutinines chez les sujets immunisés autorise à penser qu'elles jouent un rôle dans la défense de l'organisme, mais ce rôle est secondaire, car on peut trouver des organismes jouissant de l'immunité bien que dépourvus d'aglutinine et réciproquement.

On ignore par quel moyen les agglutinines peuvent contribuer à la défense de l'organisme ; il se peut qu'elles activent la phagocytose.

APPENDICE

PSEUDO-AGGLUTINATIONS

L'agglutinine spécifique, nous l'avons vu, n'est pas le seul agent capable de déterminer la floconnisation des suspensions bactériennes. Des corps de natures les plus diverses (d'origine minérale ou organique) peuvent également provoquer l'agglomération des bactéries en suspension dans un liquide. Malvoz a appelé ce phénomène : agglutination chimique.

Un certain nombre d'auteurs ont étudié la précipitation des suspensions microbiennes par les agents chimiques, soit dans le but de déterminer le mécanisme du phénomène général de floconnisation, soit dans celui de découvrir des corps agglutinant spécifiquement certaines bactéries : ce qui constituerait un moyen précieux d'identification des espèces microbiennes.

AGGLUTINATION CHIMIQUE

a) Par les non-électrolytes

Blastein (1906) est le premier expérimentateur qui ait effectué quelques recherches sur l'agglutination chimique. Cet auteur, traitant les vibrions cholériques par la chrysoïdine, constatait que ces microbes se réunissaient en amas comme par l'addition d'antisérum. Blastein pensait que cette agglutination n'avait lieu qu'avec les vibrions cholériques vrais, mais Engel (1897) et d'autres auteurs n'ont pu confirmer le fait. Bossaert (1898) n'a trouvé aucune substance agglutinant le microbe du choléra d'une façon aussi spécifique que le sérum anticholérique.

Malvoz (1897) s'est occupé particulièrement de l'agglutination du bacille typhique par les substances chimiques et a cité un certain nombre de corps capables de floconniser les suspensions de bacilles d'Eberth, notamment le formol à 40 %, le sublimé à 0 gr. 7 pour 1.000, l'alcool fort, l'eau oxygénée, la vésuvine et la safranine même en dilutions étendues.

Le fait que ces deux dernières substances exercent encore en faible quantité une action agglutinante sur les bacilles d'Eberth, portait Malvoz à considérer l'agglutinine typhique comme un produit de déssassimilitation d'une constitution moléculaire plus ou moins voisine de la safranine ou de la vésuvine. Malvoz faisait le rapprochement suivant, également à l'appui de cette hypothèse : d'une part, la diazoréaction d'Ehrlich, rencontrée fré-

quemment chez les typhiques, prouve l'existence chez ces malades de corps à molécule compliquée et facilement décomposables en dérivés diazoïques ; d'autre part, la vésuvine est précisément un corps azoïque. En réalité, la vésuvine et la safranine n'ont pas du tout la spécificité des sérums antiéberthiens, de plus, elles ne présentent nullement les caractères physiques et chimiques de l'agglutinine typhique.

Malvoz pensait que l'agglutination du bacille typhique par les substances chimiques était d'un grand intérêt pratique et que, grâce à certains réactifs, on pourrait différencier facilement le bacille d'Eberth des bacilles voisins. Le bacille typhique, selon cet auteur, serait précipité par le formol et l'eau oxygénée, tandis que ces corps seraient sans action sur le bacille coli. La safranine qui agglutine le bacille d'Eberth à la dilution de 1/1.000, n'agglutinerait le bacille coli qu'à 1/100. Mais Beco (1898), Widal et Nobécourt (1897), Remy (1900) n'ont pu différencier d'une façon certaine, avec le procédé de Malvoz, les colibacilles des bacilles typhiques.

Bien d'autres corps se sont révélés capables de déterminer l'agglutination des microbes. Citons les sels de quinine, l'antipyrine, le sulfate d'atropine, le cacodylate de soude (Sabrazes et Brenques [1899]), certains extraits d'organes : glande thyroïde, suc pulmonaire (Deutsch (1899). Les vibrions cholériques sont bien agglutinés par une solution de gomme à 10 %, une décoction de guimauve à 1 % (*Trummp* [1898]) et, d'une manière générale, par un grand nombre de substances colloïdales. Mais aucun de ces produits ne manifeste une action constante et vraiment spécifique pour une espèce microbienne donnée, ils sont donc, par conséquent, incapables de servir à l'identification des bactéries.

b) Par les électrolytes

Il est une autre classe de corps qui peuvent également produire l'agglutination microbienne : ce sont les électrolytes. Eisenberg et Volk (1902), Neisser et Friedemann (1904), Bechhold (1904), Michaélis (1911), Beniasch (1912), etc., ont étudié parallèlement l'action des acides et des sels sur les émulsions bactériennes et sur les suspensions colloïdales. Ces auteurs ont remarqué que ces deux catégories de suspensions montrent une certaine analogie dans leur précipitation par les électrolytes. Les acides et un grand nombre de sels neutres ou acides en solution d'un certain titre déterminent la floconnisation des bactéries en l'absence d'agglutinine et la floculation des suspensions colloïdales.

Suivant Michaélis, il existe pour l'agglutination de chaque espèce bactérienne par les acides une concentration optima d'ions H. Cette concentration correspondrait au point isoélectrique. Michaélis a utilisé cette propriété pour l'identification des microbes au moyen de la technique suivante : il prépare plusieurs solutions d'acide acétique et d'acétate de soude dans l'eau distillée de manière à obtenir différentes concentrations connues d'ions H.

Tableau de MICHAELIS

Solutions	NaOH N cc 3	Acide acétique N cc 3	Eau distillée	Concentrations en ions H (chiffres arrondis)
N° 1	5	7,5	87,5	1. 10^{-5}
2	5	10	85	2. 10^{-5}
3	5	15	80	4. 10^{-5}
4	5	25	70	8. 10^{-5}
5	5	45	50	16. 10^{-5}
6	5	85	10	32. 10^{-5}

MICHAÉLIS détermine quelles sont les solutions qui agglutinent le mieux les différentes bactéries. Il lui suffit donc ensuite, pour identifier un germe, ou tout au moins pour le différencier d'un autre, de rechercher par quelle solution il est le mieux agglutiné.

Cet expérimentateur a vu que les bacilles typhiques montraient la même agglutinabilité vis-à-vis les acides que vis-à-vis les sérums ; les échantillons mal agglutinés par les sérums étaient également mal précipités par les acides. De plus, MICHAÉLIS a observé que les bacilles d'EBERTH, normalement agglutinables, sont floconnisés au maximum par les solutions 3 et 4, tandis que les paratyphiques ne le sont que par les solutions 5 et 6. Les para A et para B possèdent le même optimum et ne peuvent, par conséquent, être différenciés par ce procédé.

Les bacilles coli sont pratiquement inagglutinables. Les vibrions cholériques présentent leur optimum de floconnisation dans la solution n° 1 ; il en est de même du *V. Metchnikovi* et des germes voisins. Les autres vibrions sont à ce point de vue différents des précédents (1).

Comme MICHAÉLIS, LASSEUR (inédit) a observé que toutes les bactéries ne se comportaient pas de la même

(1) Plus récemment, MICHAELIS a pensé pouvoir différencier les bactéries en adjoignant à l'action des acides celle d'un sérum ou d'une albumine. Le complexe acide + sérum précipiterait les bacilles du groupe coli, tandis qu'il serait sans action sur le b. de FLEXNER. EISENBERG (1919), qui a fait des essais analogues sur 584 souches appartenant pour la plupart aux groupes du *B. coli* et *B. typhosus*, conclut que ce procédé n'est pas susceptible actuellement de donner de bons résultats dans la différenciation des espèces bactériennes.

façon vis-à-vis les électrolytes, mais que la courbe représentative de l'agglutination par l'acide chlorhydrique, par exemple, était variable d'une espèce à l'autre. Toutefois, les différences observées sont souvent assez faibles ; d'autre part, la précipitation par les électrolytes étant très variable, suivant les conditions dans lesquelles on réalise l'expérience, il est nécessaire, pour différencier deux germes par ce procédé, de les placer dans des conditions rigoureusement identiques. L'agglutination par les électrolytes peut varier également à l'intérieur d'une même espèce. Le coli P de l'Institut PASTEUR, par exemple, est précipité par une concentration d'acide qui ne précipite pas le coli L de l'Institut PASTEUR. De plus, l'agglutination d'une même bactérie varie avec les différents électrolytes. Le coli L et le bacille de FLEXNER, non précipitables par les acides, le sont par le perchlorure de fer et le sulfate d'aluminium. LASSEUR a remarqué, en outre, que le chauffage à 80° des suspensions bactériennes peut modifier considérablement la courbe de précipitation et, de ce fait, permet de distinguer deux espèces bactériennes différentes dont les émulsions non chauffées ont des courbes de précipitation identiques.

Comme on le voit, l'agglutination par les électrolytes peut rendre parfois des services dans l'identification des bactéries.

*

Pour en terminer avec l'agglutination due à d'autres substances que l'agglutinine, signalons l'existence de deux phénomènes de floconnisation qui peuvent avoir une certaine importance pratique ; ce sont : l'agglutination de MORESCHI et la conglutination.

AGGLUTINATION DE MORESCHI

Moreschi (1908) a décrit une agglutination des bactéries par l'action combinée d'une agglutinine et d'un sérum antialbumineux. Il s'agit du phénomène suivant :

Des bactéries chargées d'une dose non agglutinante d'immunsérum sont floconnisées très rapidement et très énergiquement lorsqu'on leur ajoute du sérum précipitant l'antisérum bactérien. Soit, par exemple, des vibrions cholériques, qui ne sont pas agglutinés par une dilution donnée de sérum cholérique de chèvre, après deux heures de contact à 37°. Ces germes, centrifugés, lavés et émulsionnés dans une solution physiologique de chlorure de sodium, seront précipités par un sérum de lapin antichèvre (c'est-à-dire obtenu en injectant un lapin avec du sérum normal de chèvre).

Ici, la substance agglutinante est vraisemblablement le complexe formé par la précipitine du sérum de lapin et par l'agglutinine du sérum de chèvre, car la floconnisation des vibrions cholériques n'a pas lieu par le sérum antichèvre seul, ou lorsqu'on ajoute du sérum antichèvre à des vibrions ayant été en contact avec du sérum normal de chèvre. Moreschi recommande d'employer comme sérum antialbumineux le sérum de lapin, car car celui de toutes les espèces ne convient pas pour cette réaction.

Suivant Moreschi, ce procédé peut être utilisé notamment pour l'identification des bacilles d'Eberth peu agglutinables.

CONGLUTINATION

Bordet et Gay (1906) ont désigné sous le nom de conglutination la floconnisation des cellules chargées de sensibilisatrice et d'alexine sous l'influence d'une substance

non spécifique, appelée conglutinine, que l'on rencontre dans le sérum de veau et dans celui de quelques autres animaux. STRENG (1910) a étudié spécialement ce phénomène chez les bactéries et l'a introduit dans la pratique du sérodiagnostic. Dans l'identification d'antisérums non agglutinants, il est nécessaire, pour que la réaction ait quelque valeur, que le sérum de veau ne contienne ni agglutinine ni ambocepteur normaux à la dose où il est utilisé. On peut se débarrasser de ces derniers anticorps par digestion dans le sérum de veau des bactéries entrant en réaction. Selon STRENG, la conglutination peut servir aussi à l'identification des bactéries ; elle serait, d'après cet auteur ,plus sensible que l'agglutination. Elle a pu être utilisée pour les bacilles tuberculeux, diphtérique, pseudodiphtérique, cholérique, pour le staphylocoque, etc.

RÉSUMÉ DE L'APPENDICE

L'agglutinine n'est pas le seul agent capable de floconniser les microorganismes. De nombreuses substances peuvent également provoquer l'agglutination bactérienne, mais aucune ne manifeste une réelle spécificité.

La courbe représentative de l'agglutination par les électrolytes est variable d'une espèce à l'autre ; il est possible d'utiliser cette particularité pour la différenciation des microbes (LASSEUR).

L'agglutination peut également s'obtenir par addition aux microbes chargés d'une dose insuffisante d'agglutinine spécifique d'un sérum précipitant l'antisérum bactérien (MORESCHI).

On peut également provoquer la floconnisation d'un germe donné par l'action combinée de sa sensibilisatrice spécifique, de l'alexine et d'une substance contenue dans le sérum de veau. Ce phénomène est désigné sous le nom de conglutination.

CONCLUSIONS

I. — L'agglutination peut être divisée en deux phases :

1° La fixation de l'agglutinine sur les microbes ;

2° La floconnisation des microbes chargés d'agglutinine par le sel marin.

II. — C'est dans la première phase de l'agglutination seulement que réside la spécificité du phénomène.

III. — L'agglutination n'est pas un phénomène vital et a lieu également avec les bactéries tuées.

IV. — L'agglutination n'est pas un phénomène d'accolement. Elle n'est pas due à la formation d'un précipité extra-microbien. Elle nous apparaît plutôt comme un phénomène de « physique moléculaire » comparable à la coagulation d'une suspension colloïdale.

V. — L'agglutinabilité est une propriété commune à la plupart des êtres monocellulaires.

VI. — L'agglutinabilité est variable avec les espèces et même parfois avec les échantillons d'une même espèce.

VII. — On peut rendre artificiellement une bactérie inagglutinable. On peut également faire réapparaître une agglutinabilité accidentellement disparue.

VIII. — L'inagglutinabilité d'une bactérie paraît être due surtout à la présence de « corps empêchants » dans la culture.

IX. — Il n'existe pas de rapports constants entre la virulence, la membrane, les fouets des bactéries et leur agglutinabilité.

X. — Certaines cultures sont incapables de former une suspension durable dans l'eau distillée ou dans le sérum physiologique. Ce phénomène est désigné sous le nom d'agglutination spontanée.

XI. — L'agglutination résulte de la fixation de l'agglutinine sur une substance secrétée par les bactéries et appelée substance agglutinable.

XII. — La substance agglutinable se montre très résistante aux différents agents physiques, chimiques et biologiques.

XIII. — La substance agglutinable n'est pas localisée à la surface des bactéries ni dans leurs fouets.

XIV. — La substance agglutinable possède la propriété agglutinogène.

XV. — Le taux des sérums agglutinants est variable avec les espèces bactériennes, avec la nature de l'animal infecté, avec le mode et la durée de l'immunisation, etc.

XVI. — L'agglutinine apparaît en premier lieu et en plus grande quantité dans le sang ; la plupart des humeurs de l'organisme peuvent en contenir.

XVII. — L'agglutinine ne paraît pas être éliminée en nature mais détruite à l'intérieur de l'organisme.

XVIII. — Les sérums normaux peuvent agglutiner les bactéries, mais à un taux relativement faible. Les substances agglutinantes des sérums normaux ne semblent pas être différentes de celles des antisérums, elles possèdent la même spécificité ainsi que les mêmes caractères physiques et chimiques. La production des agglutinines normales semble être due au parasitisme des microbes.

XIX. — Les agglutinines spécifiques, outre leur action sur le microbe homologue, coagglutinent aussi, fréquemment des espèces hétérologues, mais l'agglutination spécifique est toujours supérieure à la coagglutination.

XX. — La substance agglutinogène d'une bactérie est formée de récepteurs partiels qui déterminent chacun la production d'une agglutinine partielle correspondante douée d'une spécificité rigoureuse. Ce sont les agglutinines partielles communes à deux espèces qui déterminent la coagglutination.

XXI. — Les agglutinines sont fixées à certaines albumines des humeurs dont on n'a pu les séparer.

XXII. — Eisenberg et Volk ont montré que les agglutinines possèdent un groupe *haptophore* réalisant la fixation de l'agglutinine sur la substance agglutinable et un groupe *agglutinophore* déterminant la floconnisation. La chaleur, les acides et certains autres agents peuvent détruire le groupe agglutinophore ; l'agglutinine est ainsi transformée en *agglutinoïde* qui se fixe sur les microbes, mais sans les agglutiner.

XXIII. — La fixation de l'agglutinine spécifique par les bacilles correspondants augmente avec la quantité d'agglutinine mise en présence des microbes pendant que le *coefficient d'absorption* diminue. (Le coefficient d'absorption est le rapport entre l'agglutinine fixée et l'agglutinine totale mise en présence des germes microbiens.)

XXIV. — La première phase de l'agglutination montre une grande analogie avec l'*adsorption* d'un colloïde par un autre colloïde. La deuxième phase est comparable à la floculation d'un complexe colloïdal par un électrolyte.

XXV. — La floconnisation des suspensions bactériennes paraît être sous la dépendance d'au moins quatre facteurs : charge électrique, tension superficielle, viscosité, osmose.

XXVI. — L'agglutination ne paraît pas se produire *in vivo*.

XXVII. — Les agglutinines ne doivent pas être confondues avec les sensibilisatrices.

XXVIII. — Les agglutinines paraissent jouer un rôle secondaire, rôle encore mal défini d'ailleurs, dans la défense de l'organisme.

XXIX. — La floconnisation des suspensions bactériennes peut être provoquée par des substances autres que l'agglutinine spécifique, et notamment par les électrolytes. (Agglutination chimique.)

XXX. — L'agglutination des bactéries chargées d'une dose non précipitante d'agglutinine spécifique peut être obtenue par l'addition à ces germes d'un sérum précipitant l'antisérum bactérien.

XXXI. — On peut déterminer la floconnisation d'une suspension bactérienne par l'action combinée de la sensibilisatrice spécifique, de l'alexine et d'une substance contenue dans le sérum normal de veau. On désigne ce phénomène sous le nom de conglutination.

Vu :
Le Président de la Thèse,
Ch. HOLLANDE.

Vu :
Le Directeur,
Dr L. BRUNTZ.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie,
Ch. ADAM,
Correspondant de l'Institut.

BIBLIOGRAPHIE

1905 Aaser. — Uber die Makroskopische Agglutinations probe bei Typhoïdfieber. (*Berl. Klin. Woch.*, p. 256.)

1907 Abrami. — Etude sur les coagglutinations des typho-paratyphiques. (*Jour. phys. et pathol. gén.*, p. 290.)

1896 Achard et Bensaude. — Fièvre typhoïde chez une nourrice. (*Bull. Soc. Méd. Hôp. Paris*, 31-VII, p. 31.)

1896 Achard et Bensaude. — Sérodiagnostic du choléra asiatique chez l'homme. (*Presse Méd.*, p. 504.)

1896 Achard et Bensaude. — Sur la présence de la propriété agglutinante dans le plasma sanguin et dans les divers liquides de l'organisme. (*C. R. Acad. sciences*, p. 28.)

1896 Achard et Bensaude. — Sur l'agglutination des divers échantillons du bacille d'Eberth et des bacilles paratyphiques. (*C. R. Soc. biol.*, T. 48, p. 940.)

1897 Achard et Lannelongue. — Sur le passage de la propriété agglutinante à travers le placenta. (*C. R. Soc. biol.*, p. 255.)

1906 Almagia Marco. — Einfluss des Nährbodens auf die Morphologie der Kolonien und auf die Agglutinabilitaet von Bakterien. (*Arch. f. Hyg.*, t. 59.)

1910 Altmann. — Komplementbindung und Agglutination bei der Paratyphus, Typhus und Coli-Gruppe. (*Centralbl. f. Bakt.*, p. 174.)

1910 Altmann et Rauth. — Erzeugung serologisch nachweisbarer Variationen beim B. Coli. (*Zeitsch f. Immunitætsf.*, T. 7, p. 629.)

1910 De Amato. — Untersuchungen nach der Methode der Absorption. (*Centralbl. f. Bakt.*, T. 53, p. 337.)

1898 Arloing. — Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du bacille de la tuberculose humaine en milieu liquide et sur une variété mobile de ce bacille. (*C. R. Acad. Sciences*, p. 1319.)

1898 Arloing et Courmont. — De l'obtention de cultures du bacille de Koch les plus propices à l'étude du phénomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. (*C. R. Acad. Sciences*, p. 312.)

1900 Arloing et Courmont. — De l'agglutination du bacille de Koch, applications au sérodiagnostic de la tuberculose. (*Zeitsch. f. Tuberculose*, T. 1, H. 1-2.)

1904 Arrhénius. — Zur physikalischen Chemie der Agglutinine. (*Zeitschr. f. physik. Chemie*, t. 46, p. 415.)

1904 Arrhénius. — La chimie physique dans ses rapports avec la sérothérapie. Traduction de H. Mouton. (*Bulletin Pasteur*, p. 553.)

1904 Asakawa. — Über das Wesen der Agglutination, etc. (*Zeitsch. f. Hyg.*, T. 45, p. 93.)

1910 Ast. — Pratische Erfahrungen mit der Typhusreaktion nach Mandelbaum. (*Munch. med. Wochenschr.*, p. 2634.)

1901 Bail. — Untersuchungen über die Agglutination von Typhusbakterien. (*Prag. med. Woch.*, n^os 7 et 12)

1909 Bail. — Uber die Agglutinationswirkung normalen Rinderserums. (*Centralbl. f. Bakt.*, T. 51, p. 170.)

1902 Bancel. — De la non-agglutinabilité primitive de quelques bacilles d'Eberth. (*Journal de phys. et path. génér.*, p. 512.)

1907 Banzhof et Gibson. — The fractionnal precipitation of antitoxic serum. (*Journ. biol. chemistry*, T. II, p. 252.

1910 Baroni et Jonesco. — Sur la destruction par les rayons ultra-violets etc. (*C. R. Soc. Biol.* t. 68, p. 393.)

1906 Basset-Smith. — A critical examination of the blood of patients in Hopital, to determine if other than mediterranean fever sera would agglutinate the Micrococus melitensis. (*Reports of the Commisssion of the Roy. Soc.* IV^e partie, p. 101.)

1906 Basset-Smith. — Our present Knowledge of the étiologie of mediterranean fever with special reference to the royal Navy. (*Journal of the royal san. inst.* p. 373.)

1904 Bechhold. — Die Ausflockung von Suspensionen bzw Kolloïden und Bakterienagglutination. (*Zeitschr f. physik Chem.* V. 48, p. 385.)

1910 Beecht et Greer. — Astudy of the concentration of the antibodies. (*Journ. of infect. diseases.* Vol. 7, p. 127.)

1896 Beco. — Recherches sur le serodiagnostic de la fièvre typhoïde. (*Bull. acad. roy. Belg.* n° 11.)

1898 Beco. — Recherches sur la valeur de l'agglutination par la formoline. (*Bulletin Acad. roy. med. Belgique* n° 4.)

1903 Beljaeff. — Ueber einige Eigenschaften agglutinierender sowie anderweitiger spezifischer serumarten. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 33, p. 293.)

1912 Beniasch. — Die Säureagglutination der Bakterien. (*Zeitsch. f. Immunitätsforsch.* V. 12, p. 268.)

1897 Besançon et Griffon. — Pouvoir agglutinatif du sérum dans les affections expérimentales à pneumocoques. (*Presse Méd.* p. 25.)

1901 Besredka. — Etude de l'immunité dans l'infection typhique expérimentale. (*Ann. Inst. Past.* T. XV.)

1919 Bieling. — Untersuchungen über die veränderte Agglutininbildung mit Ruhrbacillen vorbehandelter Kaninchen. (*Zeitschr. f. Immunitäts.* V. 28, p. 246.)

1904 Biltz. — Ein Versuch zur Deutung der Agglutinierungsvorgänge. (*Zeitsch f. physikal. Chem.* p. 615.)

1896 Blachstein. — Verhalten des Chrysoïdins gegen choleravibrionen. (*Munch. Med. Wochen.* p. 1067.)

1906 De Blasi. — Sopra alcune cause d'errore nella sero diagnosi. (*Boll. de Soc. lancisiana de osped di Roma* T. XXV, f. 5, p. 7.)

1903 De Blasi et Berardini. — Richerche alle agglutinine del tifo. (*Ann. Igiend sper.* T. XIII, p. 592.)

1910 Boddaert. — Uber die Umwandlung Agglutininbindender Eigenschaften des Paratyphusbacillus B. (*Deutch. Med. Woch.* N° 22, p. 1026.)

1895 BORDET. — Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés. (*Ann. Inst. Past.* T. IX, p. 462.)

1896 BORDET. — Sur le mode d'action des sérums préventifs. (*Ann. Inst. Past.* T.X, p. 193.)

1899 BORDET. — Le mécanisme de l'agglutination. (*Ann. Inst. Past.* T. XIII, p. 225.)

1906 BORDET et GAY. — Sur les relations des sensibilisatrices avec l'alexine. (*Ann. Inst. Past.* T. XX, p. 467.)

1909 BORDET et SRENG. — Les phénomènes d'absorption et la conglutinine du sérum de bœuf. (*Centralbl. f. Bakt.* T. 49.)

1910 BORDET et SLEESWIJK. — Serodiagnostic et variabilité des microbes suivant le milieu de culture. (*Ann. Inst. Past.* T. XXIV.)

1898 BOSSAERT. — Etude sur l'agglutination comparée du v. cholérique et des microbes voisins. (*Ann. Inst. Past.* T. XII.)

1896 BREUER. — Zur Widal'schen Serodiagnostic. (*Berl. Rlin Woch.* N^os 47 et 48.)

1903 BRIEGER et MAYER. — Weitere Versuche zur Darstellung spezifischer Substanzen der Bakterien. (*Deutsch. Med. Woch.* P. 309.)

1902 BRIEGER et SCHUTZ. — Uber die Darstellung einer spezifischewirkenden Substanz aus Typhusbakterien. (*Deutsch. Med. Woch.* P. 477.)

1903 BRUNS et KAYSER. — Ueber die Verwertbarkeit des Agglutinationsphaenomens zur Klinischen Diagnose und zur Identifizierung von Bakterien der Typhus-Coligruppe. (*Zeitsch. f. Hyg.* T. XLIII, p. 402.)

1907 Burgi. -- Uber Bakterienagglutinine durch normale sera. (*Arch. f. Hyg.* V. 62, p. 239.)

1907 Burgi. — Agglutination und Kolloidreaktionen (*Korr. Bl. f. Schweizer Aerzte.* P. 181.)

1911 Burnet. — Microbes et Toxines-Flammarion.

1911 Busson. — Uber Coli-Mitagglutination durch Immunsera verwendbarer Arten. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 57, p. 357.)

1905 Buxton et Torrey. — *Journal of Med. Research.* 1905.

1906 Buxton et Torrey. — *Journal of Med. Research.* 1906.

1904 Buxton et Vaughan. — On agglutination. (*Journ. of Med. Research.* T. 12, p. 115.)

1908 Calcar. — Dialyse, Eiweisschemie. — Barth-Leipzig.

1903 Cantani. — Uber die agglutinative Eigenschaft der Galle. (*Cenralbl. f. Bakt.*, v. 33, p. 731.)

1897 Castaigne. — Transmission par l'allaitement de l'agglutinine. (*C.R. Soc. Biol.* P. 13.)

1902 Castellani. — Agglutination bei gemischer Infektion und Diagnose der letzteren. (*Zeitsch. f. Hyg.* V. 40, p. 1.)

1904 Ceritto. — Intorno alla tech. della sierodiagn. del tifo. (*Ann. d'Ig. sper.*, v. 14, p. 411.)

1897 Chantemesse. — Sur le phénomène de l'agglutination. (*Semaine Méd.* P. 303.)

1889 Charrin et Roger. — Note sur le développement des microbes pathogènes dans le sérum des animaux vaccinés. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 667.)

1904 COHN. — Uber die Immunisierung von Typhusbacillen gegen die bakteriziden Kraefte des serums (*Zeitschr. f. Hyg.* V. 45.)

1904 COLE. — Uber die Agglutination verschiedener Typhusstæmme. (*Zeitsch. f. Hyg.*, p. 367.)

1902 COLEMANN et BUXTON. — Paratyphoïdic Infection. (*Mer. Journ. of med. sc. August.* 1902.)

1904 COLEMANN et BUXTON. — The bactériology of the blood in typhoïd fever ; a report of sixty cases, and a statistical study. (*New-York path. Soc. fevrier* 1904. T. IV. *Ref. Bulletin Pasteur* 1904. P. 603.)

1909 COLLINS. — The production of agglutinins in the animal body by the inoculation of substances other then products of bactérial origin. (*Journ. of exp. Med.* Vol. 10, p. 529.)

1904 CONRADI. — Uber Mischinfection durch Typhus-und Paratyphusbacillen. (*Deutsch. med. Wochenschr.*)

1906 A. COTTON et H. MOUTON. — Les ultramicroscopes et les objets ultramicroscopiques. (*Masson, éditeur.*)

1897 P. COURMONT. — Répartition de la substance agglutinante dans l'organisme des typhiques. (*C. R. Soc. Biol.* P. 194.)

1897 P. COURMONT. — Répartition, formation et destruction de la substance agglutinante. (*Sem. Méd.* P. 105.)

1897 P. COURMONT. — La courbe du pouvoir agglutinant chez les typhiques. Application au sero-pronostic. (*C. R. Biol.* P. 776.)

1897 P. Courmont. — Deux cent quarante cas de sérodiagnostic chez les typhiques. (C. R. Soc. Biol. P. 528.)

1898 P. Courmont. — Sérodiagnostic des épanchements tuberculeux des séreuses. (*Congrès de la Tuberculose, Paris*, 1898.)

1900 P. Courmont. — Courbes agglutinantes chez les typhiques. (*Rev. de Méd.*, T. 20, pages 317 et 483.)

1899 Courmont et Cade. — Transmission de la substance agglutinante par l'allaitement. (*C. R. Soc. Biol.* P. 619.)

1910 Courmont et Rochaix. — Technique de la détermination du B. d'Eberth. (*C. R. Soc. Biol.*, T. 69, p. 136.)

1902 Defalle. — Recherches sur le rôle de l'enveloppe des microbes dans l'agglutination. (*Ann. Inst. Past.* T. XVI, p. 156.)

1909 Dennemark. — Die Gruber-Widalsche Reaktion bei klinisch Gesunden in der Umgebung Typhuskranker. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 54, p. 374.)

1899 Deutsch. — Contribution à l'étude de l'origine des anticorps typhiques. (*Ann. Inst. Pasteur.* P. 689.)

1898 Dieudonné. — Expérimentelle und Kritische Beitrage zur Kenntnis der agglutinierenden Stoffe der Immunsera. (*Habilitationschr. Würtzburg* 1898.)

1898. Dineur. — Recherches sur le mécanisme de l'agglutination du bacille typhique. (*Bull. Acad. roy. de Md. de Belgique.* P. 652.)

1903 Dombrowsky. — Ueber die Widal'sche Reaktion und deren praktische Bedeutung. (*Hyg. Rundschau.*, T. XIII, p. 209.)

1906 Donati. — Sulla produzione di agglutinine e di anticorpi comuni ad alcuni simil-carbonchiosi, Il vaccino e al carbonchio virulento. (*Ref. Bul. Pasteur* 1906. P. 1.056.)

1906 Dreyer. — Uber die Anwendung von getôten Kulturen zur Widalschen Reaktion. [*Hosp. Tid.*, 4 R. V. 14, p. 532, 1906 (cit. par Paltauf, 1913.)]

1909 Dreyer. — Widal's reaction with sterilised cultures. (*Journ. of pathol. and. bact.* p. 331.)

1906 Dreyer et Blake. — On the agglutination of bacteria. (*Journ. of Pathol. Bact. Janv.* 1906. P. 1.)

1910 Dreyer et Douglas — The velocity of Reaction in the Absorption of spécific Agglutinins by Bactéria, and in the absorption of Agglutinins, Trypsin and Sulphuric Acid by Animal Charcoal (*Proc. Roy. Soc.* Vol. 82, p. 168 et p. 175.)

1909 Dreyer et Walker. — (*Brit. Med. Journ.* Vol. 1, n° 151.)

1904 Drigalski. — Uber Ergebnisse bei der Bekæmpfung des Typhus. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 35, p. 776.)

1897 Durham. — A Theory of active and passive Immunity. (*Lancet* 1897. Vol. 2, p. 470.)

1898 Durham. — The agglutinating or sedimenting properties of sera and their relation of immunity. (*Lancet.* Vol. 2, p. 446.)

1908 Eberlé. — Uber Agglutination der Meningokokken etc. (*Arch. f. Hyg.* Vol. 64, p.171.)

1902 Eisenberg et Volk. — Untersuchungen uber die Agglutination. (*Zeitschr. f. Hyg.* 1902, p. 155.)

1906 Eisler et Porges. — Uber die Différenzierung der Kapselbaktérien mit Hilfe agglutinierender und präzipitierender Immunséra. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 42, p. 660.)

1910 Eisler et Tsuru. — Ueber Bindungsverhältnisse der Agglutinine (*Zeitsch. f. Immunitætsforsch.*, V. 6, p. 327.

1899 Emmerich et Löw. — Bakteriolitische Enzime als Ursache der Ervorbenen Immunitæt (*Zeitsch. f. Hyg.* V. 31. p. 1.)

1897 Engel. — Die Diagnose der Vibrionen mit Hilfe des chrysoidins. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 21.)

1899 Etienne. — Formation autonome des substances agglutinantes par l'organisme fœtal au cours d'une fièvre typhoïde maternelle. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 860.)

1908 Eugling et Grassberger. — Zur Kentniss des inagglutinablen Typhusstamme. (*Wien. Klin. Woch.*, T. XXI, p. 510.)

1905 Falta et Noeggerath. — Rassenunterschiede von Typhusstammen und uber Hemmungskœrper im serum ihrer Bedeutung fur die Gruber-Widalsche Reaktion. (*Deutsch Arch. f. Klin. Med.*, v. 83, p. 150.)

1904 Figari. — Antitoxine und Agglutinine in Blute immunsierter Tiere. (*Berl. Klin. Woch.*, n° 7, p. 168.)

1904 Fischer. — Beitrag zur Frage der Identitœt des Meningocossus und des Diplococus intracell. mit besonderer Berücksichtigung der Agglutinationsverhaltnisse dieser beiden Biplokokkenarten. (*Arch. f. Hyg.* v. 65.)

1909 FONTEYNE. — Aglutinin und antiagglutinin. (*Centralbl. f. Bakt.* v. 52, p. 377.)

1910 FORNET et MULLER. — Praktische und theoretische Prazipitinuntersuchungen. (*Zeitsch. f. Hygiène*, v. 66, p. 215.)

1897 FRAENKEL. — Uber den Wert der Widal'schen Probe zur Erkennung des Typhusabdominalis. (*Deutsch. Med. Woch.*, n° 3.)

1897 FRAENKEL. — Weitere Erfahrungen uber den Wert etc. (*Deutsch. Med. Woch.*, n° 16.)

1897 FRAENKEL et OTTO. — Experimentelle Beitrage zur Lehre von der Agglutinationwirkung des Typhus serums. (*Münch. Med. Woch.*, n° 39.)

1909 FUKUHARA. — Beziehungen der Bakterienprazipitin zu den Agglutininen. (*Zeitsch. f. Immunitætsf.*, v. 2, p. 305.)

1906 GAETHGENS. — Beitrage zur Agglutinationstecknik. (*Arb. a. d. Kais. Ges. Amt.* v. 25.)

1907 GAEHTGENS. — Erfahrungen uber den Wert der Gruber-Widalchen Probe, etc. (*Arb. a. d. Kais. Ges. Amte*, v. 26.)

1908 GAEHTGENS. — Uber die Typhusantigène und ihre antikoerper. (*Central. f. Bakt.*, V. 42, p. 223.)

1910 GAEHTGENS et KAMM. — Welchen Werth hat die Fadenreaktion. (*Münch. med. Wochenschr.*, p. 1389.)

1902 GALEOTTI. — Zeitschrifte f. phys. Chemie, V. 40, p. 494.

1909 GAY et LUCAS. — The value of the conglutination reaction as a means of diagnosis of acute bactérial infections. (*Proc. of the society for exper. med. and biol.* vol. 7.)

1908 Geisse. — Uber Coliagglutination (*Centralbl. f. Bakt.* vol. 46, p. 359.)

1899 Gengou. — Agglutinines et lysines. (*Ann. Inst. Past.* T. XIII, p. 462.)

1899 Gengou. — Recherches sur l'agglutination dans le charbon et les relations entre les diverses propriétés du sérum. (*Arch. inter. de pharm. et de thérap.*, t. 6 p. 289.)

1899 Gheorghiewsky. — Du mécanisme de l'immunité vis-à-vis du bacille pyocyanique. (*Ann. Inst. Past.* T. XIII, p. 298.)

1907 R. Gibson et Collins. — On the fractionation of agglutinins and antitoxin. (*Journ. biol. chemistry*, t. III, p. 233.)

1896 Gilbert et Fournier. — Contribution à l'étude de la psittacose. (*C. R. Soc. biol.* t. 48, p. 1099.)

1903 Gilbert et Lippmann. — De la réaction agglutinante dans l'ictère. (*C. R. Soc. Biol.* t. 12, p. 1705.)

1904 Gilbert et Lippmann. — De l'ictère catharral d'origine éberthienne. (*C. R. Soc. Biol.*, t. LVI, p. 137.)

1904 Mme Girard-Mangin et V. Henri. — Agglutination des globules rouges par les colloïdes instables. (*C. R. Soc. Biol*, t. 56, p. 34, 35, 38, 65, 541.)

1905 Glassner. — Uber den Einfluss der Chemischen Zuzammensetzung des Nahrbodens auf die Immunkorper. (*Zeitschr. f. Exp. Path. und. Ther.* v. 1, p. 640.)

1901 Goldberg. — Die Agglutinationsreaktion bei Infektion verschiedenen Grades. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 30, p. 605.)

1906 GRAF. — Zur bakteriologischen Typhusdiagnose. (*Zeitschr. f. Hygiene* v. 54.)

1917 GRASSET. — La Biologie humaine. — Flammarion édit.

1907 GRAZIANI. — Einfluss der umgebenden Temperatur und des Kalten Bades auf die Hervorbrigen von aglutinierender Substanz bei den für den Typhus immunisierten Thiere. (*Centralbl. f. Bakt. décembre* 1906. p. 633, t. 42, Orig.)

1896 M. GRUBER. — *Wien. K. K. Gesellschaft. d. Aerzte.* 20 févr. 1896.

1896 M. GRUBER. — Aktive u. passive Immunitæt gegen Cholera und Typhus. (*Wien. Klin. Wochens.* n°s 11 et 12.)

1896 M. GRUBER. — Uber aktive und passive Immunitat gegen Typhus und Cholera. (*Verhandl.° des 14. Kongr. f. innere Medizin.* 1896, p. 207.)

1896 GRUBER et DURHAM. — Theorie der ak. und passiven Immunitat gegen Cholera, Typhus und verwandte Krankheitsprozesse. (*Münch, med. Wochenschrift* n° 9.)

1896 GRUBER et DURHAM. — Eine neue Methode zur raschen Erkennung der Choleravibrion und der Typhusbacillus. (*Münch. Med. Wochensch.*, p. 285.)

1905 GRUNBERG et ROLLY. — Beitrage zur Frage der agglutinierenden Eigenschaften des Serums Typhuskranker auf Paratyphus und verwandte Bakterien. (*Münch. Med. Wochensch.*, n° 52.)

1897 HÆDKE. — Die Diagnose des Abdominaltyphus und Widals diagnostisches Verfahren. (*Deutsche med. Wochenscher*, p. 21.)

1908 Haendel. — Zur Differenzierung der Ruhrbacillen mittels der Agglutination der Komplementablenkung und Bacteriotropen Immunserumwirkung. (*Arb. a. d. Kais. Ges. Amt.*, v. 28, p. 358.)

1903 Hamburger. — Uber spezifische Virulenzsteigerung in vitro. (*Wien. Klin. Woch.* p. 97.)

1900 Hahn et Trommsdorf. — Uber Agglutinine (*Münch. Med. Woch.* p. 413.)

1904 Hawthorn. — Sur la transmission du pouvoir agglutinant de la mère au fœtus dans la tuberculose expérimentale. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 127.)

1897 Hayem. — Sur la persistance de la propriété agglutinante du sérum des typhiques après chauffage à 57-59°. (*Soc. Médic. des Hôpitaux.*)

1903 V. Henri, S. Lalou, André Mayer et G. Stodel. — Étude générale ds propriétés des solutions colloïdades. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 56, p. 1613.)

1903 V. Henri, S. Lalou, André Mayer et G. Stodel. — Sur la précipitation de scolloïdes simples par les électrolytes. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 56, p. 1606.)

1903 V. Henri, S. Lalou, André Mayer et G. Stodel. — Étude des complexes des deux colloïdes. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 56, p. 1669 et p. 1671.)

1903 V. Henri, S. Lalou, André Mayer et G. Stodel. — Sur les phénomènes qui précèdent la précipitation des colloïdes par les électrolytes. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 56, p. 1668.)

1904 V. Henri. — Théorie Générale de l'action des ferments solubles. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 56, p. 385.)

1904 Hetsch et Lentz — Beitrage zur Frage nach der Spezifizitæt der Immunserum des normalen und

Cholera immunisierten Pferdes enthaltenen Agglutinine. (*Festschr. zu Ehren Koch*, p. 17.)

1908 Hilgermann. — Zum Ausbau der Gruber Widal'schen Reaktion. (*Klin. Jahr.*, t. XVIII, p. 360.)

1904 Hinterberger. — Farbungen agglutinierter Typhus bacillen mit silbernitrat. (*Centralbl. f. Bak.*, v. 36, p. 457.)

1908 Hirschbruck. — Die Experimentelle Herabsetzung der Agglutinierbarkeit beim typhusbacillus durch die Stoffwechselprodukte des Pyocyaneusbacillus. (*Arb. a. d. Kais. Ges. Amt.*, v. 28, p. 383.)

1903 Hoffmann. — Uber das Aùftretten von Agglutination bei Kutaner Infektion.(*Hyg. Rundschau*, p. 114.)

1907 Hœsslin. — Uber Typhusfælle mit geringer und fehlender Agglutination und Typhus æhnlische Fælle (*D. A. f. Klin. Mem.*, v. 91, p. 314, 1907.)

1893 Isaeff. — Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre le pneumocoque. (*Ann. Inst. Past.*, t. VII, p. 269.)

1894 Isaeff et Ivanoff. — Untersuchungen über Immunisierung, etc. (*Zeitschr, f. Hyg.*, p. 122.)

1904 Iversen. — Uber die Schwankungen des Agglutinationsvermœgens (*Zeitsch. f. Hyg.*, v. 49.)

1900 Jatta. — Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Mikroorganismen der Coligruppe. (*Zeitsch. f. Hyg.*, v. 33.)

1902 Joachim. — Uber das quantitative Verhalten der Eiweisskœrper in menschlichen und tierischen Flussigkeiten. (*Wien. Klin. Wochens*, p. 565.)

1906 Jobling. — Uber den Einfluss Erhœhter Temperatur auf das Agglutinationsphænomen. (*Zeitsch. f. Hyg.* v. 53, p. 154.)

1903 Iochmann. — Mischinfektion des Blutes mit Proteusbàcillen und Streptokokken zugleich ein Beitrag zur Mitagglutination von Typhusbacillen bei Proteusinfektion. (*Zeitschr. f. Klin. Med.*)

1903 Joos. — Untersuchungen über die verschiedenen Agglutinine des Typhusserums. (*Centralbl. f. Bak.*, v. 33, p. 785.)

1904 G. Jorgensen. — Variations de l'agglutinine dans la fièvre typhoïde. (Thèse pour le Doctorat. Copenhague. Ref. *Bull. Pasteur*, p. 723.)

1903 Jurewitsch. — Uber den veraerbten und intrauterinen Ubergang der agglutinierenden Eigenschaften des Blutes und die Bildung der Agglutinine im Kœrper der Embryonen. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 33, *p.* 76.)

1903 Jürgens. — Beobachtung über die Widalsche Reaktion und die Mitagglutination von Typhoïdbacillen (*Zeitschr. f. Hyg.*, *v.* 43.)

1903 Jürgens. — Untersuchungen über die Ruhr. (*Zeitschr. f. Klin med.*, *v.* 51.)

1904 Jürgens. — Zur aetiologischen Diagnose des Abdominaltyphus. (*Deutsch. Med. Woch.*, *p.* 1233.)

1906 V. Kafka. — Uber die praktische Leistungsfæhigkeit verschiedener Methoden der Agglutinationstechnik. (*Centralbl. f. Bakt*, v. 40, p. 247.)

1904 Kæmmerer. — Uber die Agglutination der Typhusbacillen bei Ikterus und Leberkranheiten. (*Berl. Klin. Wochenschr.*, *p.* 699.)

1906 Karwacki et Benni. — Sur les rapports quantitatifs dans l'agglutination tuberculeuse. (*Przegląd le Karski*, n° 33, 1906, *p.* 578 ; *Ref Bull. Pasteur*, 1906, *p.* 1007.)

1903 Kasten. — Uber die Bildung von spezifischen Antikœrpen nach Kutaner Infektion. (*Deutsch. Med. Woch.*, n° 36, *p.* 637.)

1906 Kayser. — Uber Vergleichender Bildung von Antikœrpern bei Menschen und Tieren (im besonderen Gruppenagglutininen). [*Arch. f. Hyg.*, *t.* 57, *p.* 75.]

1908 Kentzler et Benczur. — Agglutination bei Mischinfection. (*Centralbl. f. Bakt.*, *v.* 47, *p.* 263.)

1904 Kirstein. — Uber Beeinflussung der Agglutinierbarkeit von Bakterien insbesondere von Typhusbacillen. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 46, p. 229.)

1902 Klinger. — Beitrag zum Drigalski-Conradischen Verfahren des Typhusbacillennachweises und zur Identifizierung typhusverdæchtiger Bacillen. (*Centralbl. f. Bakt.*, *v.* 32, *p.* 542.)

1901 R. Koch. — Uber Agglutination von Tuberkelbacillen und über die Verwertung dieser Agglutination. (*Deutsch. Med. Woch.*)

1903 Kœhler. — Die Widalsche Reaktion bei Gelbsucht. (*Munch. Med. Wochenschr.*, n° 32.)

1900 Kœhler et Scheffer. — Die Agglutination von Fækalbakterien bei Typhus abdominalis durch das Blutserum. (*Munch Med. Wochenschr.*, n° 22.)

1910 Kœhlisch. — Uber die angeblische Aenrerung der Agglutinabilitæt der Choleravibrionen. (*Centralbl. f. Bakt.*, *t.* 55, *p.* 156.)

1908 KONRICH. — Uber den Einfluss von Wærme und Zeit auf den Ablauf der Agglutination. (*Centralbl. f. Bakt., v.* 48, *p.* 92.)

1909 KONRICH. — Eine Paratyphusepidemie in einen Krankenhaus. (*Klin. Jarb.*, v. 19, p. 3.)

1903 KORTE. — Ein Beitrag zur Kentnis des Paratyphus. (*Zeitschr. f. Hyg., v.* 44.)

1905 KORTE et STEINBERG. — Uber die agglutinierende Wirkung des serums von Typhuskranken auf Paratyphusbacillen nebst Bermerkungen über makroskopische und mikroskopische serodiagnostik. (*Münch Med. Woch., n°* 21.)

1911 KRÆGEL. — Uber die Ruhragglutinine, etc. (*Centralbl. f. Bakt., v.* 58, *p.* 48.)

1897 KRAUS. — Uber spezifische Reaktionen in Keimfreien Filtraten, etc. (*Wien. Klin. Woch., n°* 31.)

1899 KRAUS. — Uber Fadenbildung (*Wien. Klin. Woch., n°* 2.)

1903 KRAUS et JOACHIM. — Uber Beziehung der præzipitinogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien. (*Centralbl. f. Bakt., v.* 36, *p.* 662, *et v.* 37, *p.* 73.)

1899 KRAUS et LŒW. — Uber Agglutination. (*K. K. Gesellsch. der Aerzte in Wien.*)

1906 KRAUS et SCHIFFMANN. — Sur l'origine des anticorps. Précipitines et agglutinines. (*Ann. Inst. Past.* T. XX, p. 226.)

1899 KRAUS et SENG. — Mechanismus der Agglutination. (*Wien, Klin, Wochenschr.* n° 1.)

1904 KREISSL. — Klinische Erfahrungen über die Gruber-Widalschen Reaktion. (*Wien, Klin, Wochenschr.*)

1910 KUHNEMANN. — Über Veränderungen der Geizeln bei der Agglutination. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 54, p. 355.)

1909 KUHN et WOITHE. — Uber Paragglutination (*Deutsche militaeraerztl. Zeitsch.* 1909. *Med. Klin.* 1909.) Das verhalten der Darmbakterien hinsichtlich der Agglutination. (81 *Vers. Deutsch Naturf. Salzburg* 1909.)

1906 KUTSCHER. — Eine Fleischvergiftungsepidemie in Berlin durch B. paratyphus B. (Zeitschr. f. Hyg. V. 55, p. 331.)

1903 LAGRIFFOUL et PAGES. — Sur le passage de l'agglutinine de la mère au fœtus dans les cas de tuberculose maternelle. (*C.R. Soc. Biol. juil.* 1903. *P.* 1.115.)

1897 LAMBOTTE et BOSSAERT. — Recherches sur des substances chimiques agglutinantes. (Bull. acad. roya. de méd. de Belgique n° 8.)

1899 LAMBOTTE et MARÉCHAL. — L'agglutination du bacille charbonneux par le sang humain normal. (*Ann. Inst. Past.* T. XIII, p. 637.)

1897 LANDOUZY et GRIFFON. — Transmission par l'allaitement du pouvoir agglutinant (*C. R. Soc. Biol.* P. 950.)

1905 LANDSTEINER et REICH. — Uber die Verbindungen der Immunkœrper. (*Centralbl f. Bakt.* V. 39, p. 83.)

1906 LANDSTEINER et STANCOVIC. — Uber die Adsorption von Eiweisskœrpern und über Agglutininverbindungen. (*Centralbl. f. Bakt. orig.* T. 41, p. 108.)

1911 Ph. LASSEUR. — Contribution à l'étude de B chlororaphis G et S. (*Thèse doctorat ès-sciences, Nancy*, 1911.)

1909 Laubenheimer. — Der Dieudonnesche Blutalkaliagar etc. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 52, p. 294.)

1901 Laveran et Mesnil. — Trypanosome des rats. (*Ann. Inst. Pasteur.* T. XV, p. 673.

1909 F. Lebram. — Zur agglutination von typhusbacillen durch spezifisches gærtnerserum. (*Zeitschr. f. Hygiene.* T. 64.)

1897 Ledoux-Lebard. — De l'action du sérum pseudotuberculeux sur le bacille de la pseudotuberculose. (*Ann. Inst. Past.* T. XI, p. 909.)

1909 Leliwa et Schuster. — Bericht über die Untersuchungstætigkeit des Hygienischer Instituts in Posen 1908. (*Hyg. Rundschau*, n° 17.)

1903 Lesieur. — Rapports entre l'agglutinabilité et la mobilité des bacilles d'Eberth. (Journ. Phys. et Path Génér. t. V. p. 539.)

1899 Levaditi. — L'action des sels sur l'organisme au point de vue de la genèse des propriétés agglutinatives. (*C. R. Soc. Biol.* p. 757.)

1906 Levi Della Vida. — Sul fenomeno dell'agglutinazione spontanea di alcuni batteri relle soluzioni saline. (*Ann. d'Ig. sper.* t. XV, f. 3, 1905. *Réf. Bulletin Pasteur* 1906, p. 43.)

1897 Levy et Bruns. — Beitrage zur Lehre der Agglutination. (*Berl. Klin, Wochenschr.* n° 23.)

1904 Lipschuetz. — Uber die Bakteriologische Diagnose des Typhus abdom. mit Hilfe des Drigalski-Conradischen Næhrbodens und der Agglutination. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 35, p. 798.)

1902 Lipstein, — Unter Immunisierung mit Diphteriebacillen. (*Deutsch. Med. Wochens.*)

1906 Lœffler. — Uber Immuniesierung per os. (*Leuthold Festschrift* 1906.)

1901 Lœle. — Die Agglutination in den Hænden des pratischen Arzt. (*Deutsche med. Wochenschr*, n° 4.)

1909 Lœle. — Uber dans Verhalten von Blutserum nicht an Typhus verstorbener Personen gegenuber der Widalschen Reaktion. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 49, p. 629.)

1903 Lœwit et Schwartz. — Uber Bakterizidie und Agglutination in Normalblute. (*Zeitschr. f. Heilk. V.* 24, cahier 8.)

1900 Lubowski. — Uber einen atoxischen unr avirulenten Diphtheriest. (*Zeitschr. f. Hyg.* N° 35.)

1904 Lubowsky et Steinberg. — Uber Agglutination der Typhusbacillen bei Proteus und staphylokokken infektion. (*Deutsch. Arch. f. Klin Med.* V. 69.)

1904 Ludke. — Agglutination bei Autointoxikationnen, etc. (*Deutsch, Arch. f. Klin. Med.* V. 81, 1904.)

1912 Mac Farlan Landram. — Some observations upon the comparable phase etc. (*Zeitsch f. Immunitæts.* V. 12, p. 323.)

1906 Madsen, Noguchi et Walbaum. — The influence of temperatur upon the rate of reaction. (hœmolysis, agglutination, précipitation.) (*Journ. of. exp. Med.* t. 8.)

1897 Malvoz. — Recherches sur l'agglutination de B. typhosus par des substances chimiques. (*Ann. Inst. Past.*, T. XI, p. 582.)

1899 Malvoz. — Sur la présence d'agglutinines spécifiques dans les cultures microbiennes. (*Ann. Inst. Past.* T. XIII, p. 630.)

1910 Mandelbaum. — Eine dinefache Methode zur Typhusdiagnose. (*Münch. Med. Woch.* P. 178.)

1910 Mandelbaum. — Zur Typhusdiagnose nach meiner Methode. (*Münch. Med. Woch.* P. 855.)

1911 Manouelian. — Recherche sur la présence des anticorps dans l'humeur aqueuse des animaux immunisés. (*Ann. Inst. Past.*, p, 661.)

1905 Manteufel. — Erfahrungen mit der Gruber-Widalschen Reaktion bei Berucksichtigung der Mitagglutination von Paratyphus bacillen. (*Münch. Med. Wochenschr.* N° 52.)

1909 S. Marbé. — La filtration de l'agglutinine typhique, etc. (*C. R. Soc. Biol.* P. 809.)

1909 Mayer. — Uber die Schuttelextrakte bei lebenden Bakterien nach Brieger et Mayer. (*Zeitsch. f. exp. Path.* V. 6, p. 716.)

1909 O. Mayer. — Uber die Bewertung des Befundes von Paratyphus bacillen, etc. (*Klin, Jahrb*, v. 21.)

1909 Melnikova et Wersilowa. — Uber den Einfluss von Blutgiften auf die agglutination. (*Russky Wratsch.* 1909, *Zeitsch. f. Immunitæts forsch.*)

1897 Mesnil de Rochemond. — Uber die Gruber Widalsche Serodiagnostik bei Typhus abdominalis (*Münch. Med. Wochenschr.* n° 3, p. 7.)

1891 Metschnikoff. — Etudes sur l'immunité, 4e mémoire. (*Ann. Inst. Past.* t. V, p. 473.)

1892 Metschnikoff. — Mémoire sur la pneumoentérite des porcs. (*Ann. Inst. Past.* t. VI, p. 296.)

1911 L. Michaelis. — Die Saeureagglutination von Typhusbacillen. (*Deutsche med. Wochenchr.* p. 969.)

1908 MORESCHI. — Beschleunigung und Verstærkung der Baktérienagglutination durch antieiweiss sera. (*Centralbl. f. Bakt*, p. 46.)

1897 MOSSÉ et DAUNIC. — Séroréaction chez l'enfant d'une femme atteinte de dothiénentérie (*C. R. Soc. Biol.*, p. 238.)

1903 Th. MULLER. — Uber Immunisierung der Typhusbakterien gegen Spezifische Agglutinine. (*Münch. Med. Wochenschr.*, p. 56.)

1904 Th. MULLER. — Uber den Einfluss den Stoffwechseln auf die Produktion der Antikœrper. (*Wien-Klin. Woch.*, p. 300.)

1911 NÈGRE et RAYNAUD. — Sur l'agglutination des microbes mobiles par les sérums normaux. (*Ann. Inst. Past.*, t. XXV, p. 619.)

1904 NEISSER et FRIEDEMANN. — Beziehungen zur Baktérinagglutination. (*Münch. med. Wochenschr.*, n° 19.)

1904 NEISSER et FRIEDEMANN. — Studien uber Auflockunserscheinungen. (*Münch. Méd. Wochenschr*,. n° 11.)

1901 NEISSER et LUBOWSKY. — Læsst sich durch Einspritzunz agglutinierter Typhusbacillen eine Agglutininproduktion hervorrufen ? (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 30, p. 483.)

1903 NEISSER et SHIGA. — Uber freie Rezept. von Typhus und Dysenteriebacillen etc. (*Deutsch. Med. Woch.*, n° 4, p. 61.)

1909 NEUFELD. — Beobachtungen über die Auflœsung von Cholerabacillen etc. (*Zeitsch. f. Exp. Path.*, v. 6, p. 729.)

1902 Neufeld. — Uber die Agglutination der Pneumokokken und über die Theorien der Agglutination. (*Zeitsch. f. Hyg.*, v. 40, p. 54.)

1898 J. Nicolas. — Des rapports de l'agglutinabilité de divers échantillons de b de Lœffler avec leur virulence et avec le pouvoir préventif du sérum antidiphtérique à leur égard. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1127.)

1898 Ch. Nicolle. — Recherches sur la substance agglutinée. (*Ann. Inst. Past.*, t. XII, p. 161.)

1898 Ch. Nicolle. — L'agglutination spontanée des cultures, ses rapports avec l'agglutination par les sérums. (*C. R. Soc. Biol.*, t. XII, p. 1054.)

1904 Ch. Nicolle. — Suite d'expériences relatives au phénomène de l'agglutination des microbes. (*Ann. Inst. Past.*, t. XVIII, 25 avril 1904.)

1906 Nicolle et Cathoire. — Existence en Tunisie des infections paratyphiques. Pouvoir agglutinant du sang des malades, etc. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 328.)

1909 Nicolle et Conseil. — Fièvre méditerranéenne chez le cobaye par innoculation sous-cutanée et injection de cultures. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 67.)

1896 Ch. Nicolle et Halipré. — Sériodiagnostic de la fièvre typhoïde. (*Presse médicale*, juill. 1896, p. 354.)

1902 Nicolle et Trenel. — Recherches sur le phénomène de l'agglutination. (*Ann. Inst. Past.*, p. 562.)

1901 Nobécourt et Bigart. — Des propriétés agglutinatives comparées du sérum sanguin et des sérosités pour le bacille d'Eberth au cours des infections, etc. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 113.)

1903 Hideyo Noguchi. — A study immunization hœmolysins, agglutinins, précipitins and coagulins in cold

blooded animals. (*Bulletin médical de l'Université de Pensylvanie* A. XV, n° 9, n. 301-307.)

1900 NOLF. — Contribution à l'étude des sérums antihématiques. (*Ann. Inst. Past.*, t. XIV.)

1897 R. PALTAUF. — *Wien Klin. Wochensch.* 1897, p. 537.

1913 R. PALTAUF. — Die Agglutination. — Handbuch der Pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann V. 2, 1° partie, p. 483. Fischer-Jena.

1906 HALLOCK PARK. — Some observations upon the agglutination of bacteria (*Journ. of. Infect. disease.* suppl. 2.)

1907 PERRONE. — Influence de la réfrigération sur les cultures typhiques au point de vue de l'agglutination, de l'immunisation et de la virulence. (*Centralbl. f. Bakt.*, t. XXXXIII, 1907, *Ref. Bull. Past.* 1908.)

1808 PFAUNDLER. — Eine neue Form der serumreaktion auf coli und Proteus Bacillen. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 22, p. 71.)

1898 PFAUNDLER. — Eine hændliche Methode zur Messung der agglutinativen Fæhigkeit des Blutes Kranker. (*Wien. Klin. Woch.*, n° 21.)

1899 PFAUNDLER. — Uber Gruppenagglutination und über das Verhalten den B. Coli bei Typhus. (*Münch. Med. Woch.*, n° 15.)

1896 PFEIFFER. — Kritische Bemerkungen zu Gruber Theorie der aktiven und passiven Immunitæt gegen Cholera, Typhus und verwandte Krankheitsprozesse. (*Deutsch. Med. Woch.*, n°s 7 et 8.)

1902 PFEIFFER et FRIEDBERGER. — Uber dasWesen der Bakterienvirulenz. (*Berl. Klin. Woch.*, p. 581.)

1896 Pfeiffer et Kolle. — Uber die spezifische Immunitætsreaktion der Typhusbacillen. (*Zeitsch. f. Hyg.* p. 203, vol. 21, n° 2.)

1896 Pfeiffer et Kolle. — Zur differential Diagnose der Typhusbacillen vermittelst serum der gegen Typhusimmunisierten Tiere. (*Deutsch. Med Woch.*, mars 1896, p. 185.)

1898 Pfeiffer et Marx. — Die Bildungstætte der cholerastoffe. (*Zeitschr. f. Hyg.*, p. 275.)

1897 Pfuhl. — Eine Vereifachnung des Verfahrens zur serodiagnostick des typhus. (*Centralbl. f. Bakt.*, vol. 21, n° 2, p. 52.)

1902 Pick. — Zur Kenntniss der Immunkœrper. (III *Mitteilung. Hofmeister Beitrage.*, v. 1, 1902.)

1905 O. Porges. — Uber die Agglutinabilitæt der Kapselbakterien. (*Wien. Klin. Wochenschr.*, p. 691.)

1905 O. Porges. — Uber die Beziehungen zwischen Bakterien agglutination und Ausflokungserscheinungen der Kolloïde. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 40, p. 133.)

1905 O. Porges. — Zur Kenntniss der Agglutinierenden immunséra. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 39, p. 319.)

1905 O. Porges. — Folgen der Veræenderungen des Bakterienproteins für die agglutination und Præzipitation. (*Zeitschr. f. Exp. Path.*, v. 1, p. 620.)

1906 Porges et Prantschoff. — Uber die Agglutinabilitæt von Bakterien besonders B. typhi. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 41.)

1903 Posselt et Sagasser. — Uber Beeinflussung der Agglutinine durch spezifische Absorptionen, etc. (*Wien. Klin. Woch.*, n° 24.)

1902 PRŒSCHER. — Zur Anstellung der Widalschen Reaktion. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 31, p. 400.)

1903 PRŒSCHER. — *Deutsche Med. Wochenschrift.*, n° 11.

1904 PULVIRENTI. — Sul potere agglutinante di sangue immune etc. (*Gaz. med. Ital.* 1904., p. 396.)

1908 RANSOM et KITASHIMA. — Untersuchungen über die Agglutinationfæhigkeit der Cholera vibrionen durch Choleraserum. (*Deutsch. Med. Wochen.*, p. 293.)

1900 J. REHNS. — Contribution à l'étude de l'immunité acquise. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1058.)

1901 J. REHNS. — L'absorption des toxines, agglutinines, etc, injectées au niveau des voies respiratoires. (*C. R. Soc. Biol.*)

1901 J. REHNS. — L'agglutinabilité des bacilles typhiques; mesure de leur pouvoir agglutinogène. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1143.)

1897 REMLINGER. — Fièvre typhoïde expérimentale par contamination alimentaire. (*Ann. Inst. Past.*, t. XI, p. 55.)

1899 REMLINGER. — Contribution expérimentale à l'étude de la transmission héréditaire de l'immunité, etc. (*Ann. Inst. Past.*, p. 129.)

1901 REMY. — Sur l'Eberth inagglutinant des eaux. (*Ann. Inst. Past.*, t. XV, p. 145.)

1905 RIEUX et SACQUÉPÉE. — Valeur de la saturation dans le diagnostic des agglutinines typhiques et paratyphiques. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 653.)

1905 RIEUX et SACQUÉPÉE. — Agglutination et coagglutination des bacilles paratyphiques et typhiques. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 536.)

1910 Righi. — Su alcune modalità dell'agglutinazione del bacillo di Eberth. (*Riv. di. Ig. edi San. publ. mai* 1910, t. XXI, n° 10, p. 292.)

1905 Robitchek et Natonek. — Uber Unterschiede in den biologischen Eigenschaften der Typhusbacillen. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 69, p. 241.)

1897 Rodet. — Sur la propriété agglutinative à l'égard du bacille coli et du bacille d'Eberth des sérums d'animaux immunisés contre ces microbes. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 874.)

1900 Rodet. — Sur l'agglutination du bacille d'Eberth et du bacille coli du Bacille typhique cadavérique. (*Journ. de phys. et pathol. gén.*, t. II.)

1903 Rodet. — Sur l'agglutinine des sérums normaux. Quelques particularités du pouvoir agglutinatif et précipitant, etc. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1628.)

1902 Rodet et Lagriffoul. — La propriété agglutinative du sérum des animaux immunisés à l'égard du bacille d'Eberth, etc. (*Journ. de Phys. et Path. général.*, 1902.)

1903 Rodet et Lagriffoul. — *C. R. Soc. Biol.*, p. 1626 et p. 1896.

1896 H. Roger. — Les infections non bactériennes. Recherches sur l'oïdo-mycose. (*Revue générale des sciences*, t. VII, p. 770.)

1901 Romberg. — Zur Serumdiagnose der Tuberkulose. (*Deutsch. Med. Woch.*, n°s 18-19.)

1904 De Rossi. — Uber die agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geizeln. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 36, p. 685 ; v. 37, p. 107.)

1904 De Rossi. — Filtrierbarkeit der Geizeln und ihre Funktion als Freirezeptoren. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 37, p. 433.)

1905 De Rossi. — Sui fenomeni di agglutinazione dei batteiri. (*Arch ,p. la Scienze Med.* 1905, p. 477. *Ref. Bull. Pasteur*, 1906, p, 178.)

1906 De Rossi. — Uber die Phænomen der Agglutination der Bakterien. (*Centralbl. f. Bak.*, v. 40, p. 562 et 698.)

1902 Rostoski. — Zur Kentniss der Prezipitine. (Wurzburg, Hubert, 1902.)

1900 Rothberger. — Uber Agglutination des B. Coli. (*Zeitsch. f. Hyg.*, v. 34, H. 1.)

1904 Ruediger. — Improved technic of agglutination test in typhoïd fever. The use for formalinized cultures. (*Journ. of. infect. disease.* 1904, t. I, p. 236.)

1899 Sabrazes et Brengues. — Agglutinines chimiques. (*C. R. Soc. Biol*, 25 novembre.)

1909 Sachs-Müke. — Die Haltbarkeit des Agglutinationsvermœgens von aufbewahrtem Blutserum Typhuskranker. (*Klin. Jahrb.*, v. 20, 1909.)

1913 Sachs et Ritz. — Exp. spez. Diagn. mittels Agglutination etc. (*Handbuch von Kolle et Wassermann*, v. III., p. 1. Fischer Iéna.

1901 Sacquépée. — Variabilité de l'aptitude agglutinative du bacille d'Eberth. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. XV, p. 248.

1910 Sacquépée. — Les porteurs de germes. (*Bulletin de l'Inst. Pasteur*, 1910, p. 3.)

1907 Sacquépée et Chevrel. — Notes cliniques sur les infections paratyphiques. — Les procédés de diagnostic. (*Bulletin Soc. Méd. des Hôp. de Paris*, pages 897 et 980.)

1905 Sacquépée et Fras. — Note sur la pathogénie de l'ictère catharral. Rôle des bacilles typhiques, paratyphiques et du colibacille. (*C. R. Soc. Biol.*, t. 59, p. 533.

1905 Sadler. — Uber den Einfluss des Temperaturoptimum von 55° C. auf die Agglutination beim Fikerschen und Widalschen Versuchen. (*Berl. Klin. Wochen.*, p. 225.)

1897 T. Salimbini. — Premier mémoire sur l'agglutination. (*Ann. Inst. Past.*, t. XI, p. 277.)

1904 Scheller. — Experimentelle Beitrage zur Theorie der Agglutination I. Normalagglutinine. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 36, p. 427 et 694.)

1907 Schneider. — Moderne Typhusbekæmpfung (*Int. Kong. f. Hygiene*, Berlin, 1907.

1907 Schtülern. — De la bactériémie typhique et ses rapports avec le pouvoir agglutinant du sérum au cours de la fièvre typhoïde. (*Russki Wratch. Ref. Bull. Past*, 1907.)

1905 Schutz W. — Uber Agglutination durch die Trænenflussigkeit Typhusskranker. (*Med. Klin.*, p. 1386.)

1909 Schultz. Zur Statistik der Mittagglutination von Typhus und Paratyphus B Bacillen. (*Deutsche Med. Wochenschr.*, 1909, n° 13.)

1901 Schumacker. Ubergang der Agglutinine auf den Fœtus. (*Zeitsch. f. Hyg.*, v. 37, p. 323.)

1905 Sehrwald. — Steigerung der Agglutinierbarkeit der Typhusbacillen und ihr Werth für die Typhusdiagnose. (*Deutsch. Med. Woch.*, p. 261.)

1909 Siciliano. — Intorno alla questione dell'immunita locale. (*Riv. crit. clin. med.*, v. 10, 1909.)

1906 Shibayama. — Zur Agglutinoïdfrage. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 42, p. 64.)

1905 Shibayama. — Uber die Agglutination des Pestbacillus. (*Centralbl., f. Bakt.*, v. 38, p. 482.)

1905 Smith. — The role of agglutination in immunity. (*Proceedings of the Linnean Société of New South Wals. Part.*, 2 juillet 1905). — *Ref. Bull. Pasteur*, 1906, p. 44.)

1903 Smith et Reagh. — The agglutination affinities of related bacteria parasitic in differents host. (*Studies from the Rockfeller Institut to. Journ. of Med. Res.*, vol. 9, p. 270.)

1903 Smith et Reagh. — The non identity of agglutinin acting upon the flagella and upon the body of bactéria. (*Journ. Of. Med. Research.*, t. 10, p. 89.)

1910 Sobernheim et Seligmann. — Beobachtungen über die Umwandlung biologisch wichtiger Eigenschaften von Bakterien Untersuchungen Enteritisgruppe. (*Deutsch. Med. Woch.*, n° 8.)

1903 Staubli. — Experimentelle Untersuchungen über die Ausscheidung der Typhus agglutinine. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 33, p. 375.)

1906 Staubli. — Uber das Verhalten des Typhus Agglutinins im mütterlichen und tætalen Organisimus. (*Münch. Woch.*, n° 17, p. 798.)

1907 Staubli. — Beitræge zur Frage der biologischen Beziehungen zwischen Mutter und Kind. (*Arch. f. Kinderheilk.*, v. 49, p. 321.)

1914 Stassano et Lematte. — Nouvelle méthode de sérodiagnostic des affections typhiques et paratyphiques avec des émulsions de bacilles tués par les rayons ultra-violets. (*Soc. Méd.*, Paris, avril 1914.)

1909 Streng. — Vergleichende Untersuchungen über den Einfluss von Temperatur und Alkali auf die Typhus, und Coli-Immunagglutinine und auf die Coli-Normalagglutinine. (*Zeitsch. f. Hyg.*, v. 62, p. 281.)

1909 Streng. — Studien über das Verhalten des Rinderserum gegenüber Mikroben. (*Centralbl. f. Bakt.*, p. 50.)

1909 Streng. — Uber das Vorkommen der Konglutinine in den seren verschiedener Tiere besonders der Wiederkæuer. (*Zeitsch f. Immunitæts.*, v. 2, p. 415.)

1909 Streng. — Agglutinine oder Konglutinine. *Centralbl. f. Bakt.*, v. 52.)

1910 Streng. — Alexin oder Proagglutinoïd (*Zeitsch. f. Immunitætsf.*, v. 4, p. 515.)

1906 Streit. — Zur Frage der Agglutinierbarkeit von Kapselbacillen. (*Centralbl. f. Bakt.*, v. 40, p. 709.)

1906 Smith. — The probable identity of the opsonins with normal agglutinins. (*Proc. Linean. Soc. Roy. of New-South-Wals*, Party IV, nov. 1905.)

1898 Sternberg. — Zur Biologie des Boasschen Milchsæure Bacillus. (*Wien. Klin.*, 1898, p. 744.)

1900 Sternberg. — Zur Verwerbarkeit der agglutination für die Diagnose der Typhusbacillen. (*Zeitsch f. Hyg.*, p. 34.)

1898 Tarchetti. — Contributo allo studio dela serodiagnosi nell' infezion tiphoide. (*Gazzo. d'osped.*, p. 6, t. XI.)

1899 Tchistowitch. — Etudes sur l'immunisation contre le sérum d'anguille. (*Ann. Inst. Pasteur*, t. XIII, p. 406.)

1896 Thiercelin et Lenoble. — Rechute de fièvre typhoïde chez une malade dont le sérum était agglutinant. (*C. R. Soc. Biol.*, p. 1019.

1896 Thiercelin et Lenoble. — Action agglutinante du lait d'une typhique, etc. (*Presse Méd.*, p. 374.)

1901 Tobiesen. — Uber den diagnostischen Wert der Widalschen Serumreaktion. (*Zeitschr. f. Klin. Med.*, v. 43, p. 147.)

1909 Toyosumi. — Biolog. Analyse des Reaktionproduktes zwischen Normalserum und Cholerasubstanz. *Fol. serol. III*, 1909.)

1908 Arturo Trevisan. — Sulla fuzione del cloruro di sodio nel fenomeno dell' agglutinazione. (*Ann. Ig. Sper.*, t. XVII, f. 3, pp. 309-322,, *Inst. Hyg. Univ. Padoue.*)

1908 Tribondeau. — Notes sur le sérodiagnostic par les cultures mortes de bacilles typhiques. (*C. R. Soc. biol.*, p. 93.)

1903 Troussaint. — La réaction de Widal et le pronostic de la fièvre typhoïde. (*C. R. Soc. Biol.*)

1898 Trumpp. — Die Beziehungen der Agglutination zur Immunitæt. (*Arch. f. Hyg.*, v. 33.)

1898 Trumpp. — Das Phænomen der Agglutination und seine Beziehungen zur Immunitæt. (*Arch. f. Hyg.*, v. 33, H. 1.)

1910 Tzuzuki. — Uber die Schnellimmunisierungsmethode nach Fornet et Muller. (*Zeit. f. Immunitætsf.*, v. 4, p. 194.)

1897 Uhlenhuth. — Beitrage zur serumdiagnose beim Typhus. (*Deutsch. Milit. Aerztl. Zeitsch.*, p. 111.)

1913 Uhlenhuth. — Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle et Wassermann, 1913, v. III.

1899 Van Emden. — Uber die Bildungsstædte der agglutinin Subst. bei der Infektion mit B. aerogenes. (*Zeitsch. f. Hyg.*, v. 30, p. 19.)

1897 Van de Velde. — Influence de la chaleur, des sels, des métaux lourds et d'autres antiseptiques sur les cultures de bacilles typhiques employées dans le sérodiagnostic de la fièvre typhoïde. (*Acad. Méd. Belgique*, 1897, *Semaine Médicale*, n° 15, p. 114.)

1897 Van de Velde. — Pouvoir agglutinant d'un sérum de cheval vacciné contre la fièvre typhoïde. (*C. R. Soc. Biol.*, n° 30.)

1906 Venema. — Die Agglutination von Bakterien durch Galle. (*Berl. Klin. Woch.*, n° 30.)

1909 Venema. — Uber das Temperaturoptimum bei der mikroskopischen Gruber-Widalschen Reaktion. (*Hyg. Rundschau* n° 2.)

1902 Verney. — Uber die Gegenseitige Wirkung aufeinander folgender immunisierungen im tierischen organismus. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 32, p. 290.)

1898 Vincent. — Sur les aptitudes pathogènes des microbes saprophytes. (*Ann. Past.* T. XII, p. 789.)

1902 Volk et de Wæle. — Hemmungsercheinungen bei frischen Immunseris. (*Wien. Klin Wochensch.*)

1902 Walker. — Immunisation against Immunserum (*Journ. of Path. and Bact.* vol. 8.)

1903 Wassermann. — Uber Agglutinin et Præzipitin. (*Zeitsch f. Hyg.* V. 42, p. 267.)

1911 E. Weil. — Die agglutinationbehinderung durch Bakterienextrakte. (*Biochem Zeitschr.* V. 33, p. 56.)

1904 Weil. — Uber den Einfluss der Temperatur auf die spezifische und nicht-spezifische Agglutination. (*Centralbl. f. Bakt.* V. 36, p. 677 et v. 37, p. 98.)

1903 A. Werner et Ismailova.— Sur la nature chimique de la substance agglutinante du sérum typhique. (*C. R. Soc. Biol.* 13.)

1896 Widal et Sicard. — Sur les affections paratyphoïdiques et le sériodiagnostic de la fièvre typhoïde. (*Soc. Méd. des Hôpituax*, 26 juin 1896, p. 655.)

1896 Widal et Sicard. — Différenciation du bacille typhique et du bacille de psittacose par la réaction agglutinante. (*C. R. Soc. Biol.* p. 991.)

1896 Widal et Sicard. — La réaction agglutinante comparée chez les typhiques pendant l'infection et l'immunité. (*C. R. Soc. Biol.* p. 1.073.)

1896 Widal et Sicard. — Recherche de la réaction agglutinante dans le sang et le sérum desséché des typhiques et dans la sérosité des vésicatoires. (*Soc. Méd. des Hôpitaux*, Juil. 1896.)

1897 Widal et Sicard. — Sérodiagnostic par le sang desséché au point de vue de la médecine légale et de l'hygiène publique. (*Soc. Biol.* Janv. 1897.)

1897 Widal et Sicard. — La mensuration du pouvoir agglutinatif chez les typhiques. (*C. R. Soc. Biol.* T. 49, p. 187.)

1897 Widal et Sicard. — Etude sur le sérodiagnostic. (*Ann. Inst. Past.* Mai 1897, p. 353.)

1897 Widal et Nobecourt. — Dissociation de la propriété immunisante de la propriété agglutinante. (*C. R. Soc. Biol.* p. 842.)

1910 Wilson. — On the heterologues agglutinins more particulary those present in the blood serum of cerebrospinal fever and typhus fever cases. (*Journ. of Hyg.* t. 9, 1909, p. 316. *Ref. Bul. Past.* 1910. p. 132.)

1899 Winterberg. — Untersuchungen über das Typhusagglutinin etc. (*Zeitsch. f. Hyg.* V. 32, 1899, p. 375.)

1897. Wright. — Note on the technique of serum diagnosis of acute specific fevers. (*Brit. Med. Journ.* Vol. 1, p. 139.)

1897 Wright et Semple. — Remarques on vaccination against typhoïd fever. (*Brit. Med. Journ.*, p. 719.)

1904 Zevi-Vittorio. — Uber die Gruber-Widalsche Reaktion bei Ikterus. (*Wien. Klin. Wochen.*, T. XVIII, p. 801.)

1904 Zlatogorof. — Zur Morphologie und Biologie der Mikroben der Bubonenpest, etc. (*Centralbl. f. Bakt.*, V. 37.)

1906 Kupnik. — Uber Verschiedene Arten von Paratyphen etc. (*Zeitschr. f. Hyg.* V. 52.)

1902 Zupnik. — Widalsche Serumreaktion bei Weilscher Krankheit. (*Münch. med. Wochenschr.* p. 1305.)

1903 Zupnik et Posner. — Typhus und Paratyphus. (*Prag. med. Wochenschr.*, 1903.)

TABLE DES MATIÈRES

Pages.

INTRODUCTION 5
HISTORIQUE 7

CHAPITRE I.

L'AGGLUTINATION

Ses principaux caractères

§ 1. — Généralités. — Définition 11
§ 2. — Caractères macroscopiques du phénomène. 13
§ 3. — Caractères microscopiques du phénomène. 15
§ 4. — Agglutination et agglutinines 16
§ 5. — Division du phénomène 18
§ 6. — Spécificité de l'agglutination 19
§ 7. — Agglutination in vivo 22
§ 8. — L'agglutination est-elle un phénomène biologique ? 24
§ 9. — L'agglutination influe-t-elle sur la vie du microbe ? 25
§ 10. — L'agglutination n'altère ni les fouets ni la membrane des bactéries 27
§ 11. — Agglutination et accolement des bactéries. 28
§ 12. — Agglutination et précipité extramicrobien. 32
§ 13. — Analogie avec la précipitation 35
§ 14. — L'agglutination phénomène d'attraction moléculaire 37
RÉSUMÉ DU CHAPITRE I 42

CHAPITRE II.

L'ANTIGÈNE

Agglutinabilité des bactéries

§ 1. — De l'agglutinabilité en général 43
§ 2. — Inagglutinabilité et hypoagglutinabilité naturelles des bactéries 47

Pages.

§ 3. — Inagglutinabilité provoquée..... 49
§ 4. — Réapparition de l'agglutinabilité..... 54
§ 5. — Causes de l'inagglutinabilité : Corps empêchants..... 55
§ 6. — Agglutinabilité et virulence..... 60
§ 7. — Agglutinabilité et membrane..... 61
§ 8. — Agglutinabilité et mobilité..... 62
§ 9. — Agglutinabilités spéciales..... 64
§ 10. — Agglutination spontanée..... 67
§ 11. — L'agglutinabilité et la pratique de l'agglutination..... 70
RÉSUMÉ DU CHAPITRE II..... 76

CHAPITRE III.

L'ANTIGÈNE (Suite)

La substance agglutinable

§ 1. — Passage de la substance agglutinable dans les filtrats..... 77
§ 2. — Propriétés physiques et chimiques de la substance agglutinable..... 79
§ 3. — Variations de la substance agglutinable... 89
§ 4. — Répartition de la substance agglutinable dans les bactéries..... 93
RÉSUMÉ DU CHAPITRE III..... 97

CHAPITRE IV.

L'ANTICORPS

Formation de l'agglutinine dans l'organisme

§ 1. — Influence de la nature de l'antigène sur la production d'agglutinine..... 99
§ 2. — Influence de la quantité d'antigène..... 102
§ 3. — Influence du mode de pénétration de l'antigène dans l'organisme..... 103
§ 4. — Influence de la nature de l'animal et des conditions physiologiques dans lesquelles il se trouve..... 106
§ 5. — Teneur des sérums en agglutinine..... 108
§ 6. — Date d'apparition et courbe de l'agglutinine 108
§ 7. — Durée de la présence de l'agglutinine dans l'organisme..... 111

Pages.

§ 8. — Répartition de l'agglutinine dans l'organisme. 112
§ 9. — Origine des agglutinines..... 114
§ 10. — L'agglutinine dans le fœtus..... 122
§ 11. — Agglutinine passive dans l'organisme : date d'apparition. — Disparition..... 125
§ 12. — Elimination de l'agglutinine..... 127
Résumé du Chapitre IV..... 130

CHAPITRE V.

L'ANTICORPS (Suite)

Spécificité de l'agglutinine. — Agglutination normale Coagglutination

1re Partie : Agglutination par les sérums normaux..... 132
2e Partie : Coagglutination..... 135
§ 1. — Définition du phénomène..... 135
§ 2. — Coagglutination et parenté des espèces.... 136
§ 4. — Agglutinines multiples et coagglutinines.. 141
§ 5. — Agglutinines partielles et spécificité..... 143
§ 6. — Autres agglutinines hétérologues..... 146
§ 7. — L'agglutinine normale et les coagglutinines dans la pratique de l'agglutination..... 148
Résumé du Chapitre V..... 157

CHAPITRE VI.

L'ANTICORPS (Fin)

Nature de l'agglutinine

§ 1. — Composition et propriétés chimiques..... 159
§ 2. — Influence des agents physiques et chimiques sur l'agglutinine..... 165
§ 3. — Structure de l'agglutinine..... 168
§ 4. — Empêchement dans un sérum frais..... 173
§ 5. — Existe-t-il des antiagglutinines ?..... 174
Résumé du Chapitre VI. 176

CHAPITRE VII.

ACTION DE L'ANTICORPS SUR L'ANTIGÈNE

§ 1. — Rapports quantitatifs d'union de l'agglutinine et de la substance agglutinable.... 177

Pages.

§ 2. — Vitesse de réaction de l'agglutinine sur la substance agglutinable 188
§ 3. — Réversibilité de la réaction d'union 190
§ 4. — Propriétés acquises du complexe anticorps-antigène 191
§ 5. Nature de l'union anticorps-antigène 194
§ 6. — Nature de la floconnisation 199
Résumé du Chapitre VII 202

CHAPITRE VIII.

AGGLUTINATION ET IMMUNITÉ

De l'immunité en général 203
Action bactéricide des humeurs 205
Action des sensibilisatrices dans l'immunité 208
Action des agglutinines dans l'immunité .. 209
Résumé du Chapitre VIII 216

APPENDICE

PSEUDO-AGGLUTINATIONS

Agglutination chimique 218
Agglutination de Moreschi 223
Coagglutination 223
Résumé de l'Appendice 225
Conclusions 227
Bibliographie 233

ERRATA

Page 13, titre du § 2, lire : Caractères macroscopiques, au lieu de : Caractères microscopiques.

Page 27, 14e ligne, lire : l'agglutinine seule, au lieu de : l'alexine seule.